



Factores predisponentes a sufrir enfermedad de Chagas

Romina Blasco.

Tesis (Dr. Medicina)--Universidad Nacional de Córdoba. Facultad de Ciencias Médicas, 2019.

Aprobada: 10 de diciembre de 2019.

Este documento está disponible para su consulta y descarga en RDU (Repositorio Digital de la Universidad Nacional de Córdoba). El mismo almacena, organiza, preserva, provee acceso libre y da visibilidad a nivel nacional e internacional a la producción científica, académica y cultural en formato digital, generada por los miembros de la Universidad Nacional de Córdoba. Para más información, visite el sitio <https://rdu.unc.edu.ar/>

Esta iniciativa está a cargo de la OCA (Oficina de Conocimiento Abierto), conjuntamente con la colaboración de la Prosecretaría de Informática de la Universidad Nacional de Córdoba y los Nodos OCA. Para más información, visite el sitio <http://oca.unc.edu.ar/>

Esta obra se encuentra protegida por una Licencia Creative Commons 4.0 Internacional



Factores predisponentes a sufrir enfermedad de Chagas por Romina Blasco se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons Atribución – No Comercial – Sin Obra Derivada 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

TESIS DE DOCTORADO EN MEDICINA Y CIRUGÍA

**“FACTORES PREDISPONENTES A SUFRIR
ENFERMEDAD DE CHAGAS”**

MÉDICA ROMINA BLASCO

Facultad de Ciencias Médicas
Universidad Nacional de Córdoba
(2019)

Comisión de Tesis

Directora

Prof Dra Patricia Paglini

Comisión Asesora:

Prof Dra Marta Fiol de Cuneo

Prof Dra Adela Sembaj

**“LA FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS NO SE HACE
SOLIDARIA CON LAS OPINIONES DE ESTA TESIS”**

(Art 30 del Reglamento para la Carrera de Doctorado en Medicina y Cirugía)

El presente trabajo fue realizado en la Cátedra de Física Biomédica, Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba, con fondos de:

Secretaría de Ciencia y Tecnología de la Universidad Nacional de Córdoba.

Ministerio de Ciencia y Tecnología de la Provincia de Córdoba.

La tesista realizó el trabajo con las siguientes Becas:

PROMED de la Facultad de Ciencias Médicas, Ministerio de Educación de la Nación.

Beca para finalización de Doctorado de Secretaría de Ciencia y Tecnología de la Universidad Nacional de Córdoba.

Dedicatoria

A Santiago, Guillermo, Norma y Roberto

Agradecimientos

- Gracias de corazón a mi directora, la Doctora Patricia Paglini por haber creído en mí, por su paciencia, dedicación, motivación, criterio y aliento en cada instancia del desarrollo de ésta tesis Doctoral. Ha sido un privilegio poder contar con su guía, ayuda y amistad.
- A la Dra Adela Sembaj miembro de la Comisión Asesora por su invaluable aporte en la realización de la presente Tesis, por su apoyo y cariño constante.
- A la Dra Marta Fiol de Cuneo miembro de la Comisión Asesora por sus oportunos y enriquecedores aportes a lo largo de éste proceso.
- Para la Sra médica Noemí Miler por estar siempre, cuidarme y aconsejarme.
- Al Prof. Guillermo Fernandez por su generosidad y darme la posibilidad de conocer y trabajar con personas hermosas.
- A mis compañeros del laboratorio y de la Cátedra de Física Biomédica por alentarme y apoyarme en todo momento.
- Para mis queridos padres, gracias por ser un sostén y una guía permanente, por estar siempre a mi lado, por los consejos, por la educación que me brindaron que hoy me permite cumplir este sueño.
- A Guillermo por su amor incondicional, por la comprensión, por creer en mí y por nuestro tesoro.
- A Santiago que es mi inspiración y mi fuente de amor.
- A mi familia: Federico, Ema, Ana, Luz, Martina, Ofelia, Alcides y Trinidad que siempre me acompañó y brindó su cariño.
- A mis amigas queridas por ser parte de mi vida: Sole, Caro, Mané, Lore, Diana y Vero.
- A los Sres médicos Fernando Alfondo y Gustavo Estrella por ser mis instructores y guías, por brindarme tantas horas de enseñanza y amistad.
- Gracias a mi universidad, por haberme permitido formarme y en ella, a todas las personas que fueron partícipes de éste proceso.
- A todos mis queridos pacientes.

INDICE

RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	4
INTRODUCCIÓN.....	7
OBJETIVOS.....	33
MATERIALES Y MÉTODOS.....	34
RESULTADOS.....	43
DISCUSIÓN.....	68
CONCLUSIONES.....	88
BIBLIOGRAFÍA.....	90

Resumen

La miocardiopatía chagásica crónica es la manifestación clínica más expresiva de la Enfermedad de Chagas. Entre otros factores, la variabilidad genética del paciente podría contribuir al establecimiento de las diferentes formas clínicas, que pueden resultar desde una cardiopatía leve sin consecuencias, hasta la muerte súbita. La presencia de polimorfismos en los genes que codifican proteínas canales se han asociado con distintos disturbios en la conducción eléctrica cardíaca. El objetivo del presente trabajo fue establecer una posible asociación entre los polimorfismos A572D y H558R de genes que codifican proteínas canales de Na^+ dependientes de voltaje, como el SCN5A (subunidad α de canal de sodio voltaje dependiente tipo V), con parámetros electrocardiográficos, estructurales y clínicos para establecer un perfil genético de riesgo en pacientes con Enfermedad de Chagas.

Para ello se estudiaron 189 pacientes que concurrieron al consultorio de Chagas ante la sospecha epidemiológica, de los cuales 129 (68,2%) presentaron serología positiva para Chagas y 60 (31,8%) serología negativa. El grupo de serología positiva tuvo una edad media de $62,6 \pm 13,78$, siendo del género femenino un 65% (n: 84) y del masculino un 35% (n: 45). En un 34,88 % se evidenció PCR positiva (en una única muestra sanguínea).

La edad media del grupo con serología negativa fue de $57,53 \pm 17,8$, con un 66,6% de individuos del género femenino (n: 40) y un 33,4% del masculino (n: 20). No se evidenció diferencia significativa en cuanto a las edades de ambos grupos.

Se evaluaron los parámetros clínicos (sintomatología cardiovascular y digestiva, tanto como los antecedentes personales patológicos y epidemiológicos), electrocardiográficos (trastornos del ritmo cardíaco, bloqueos, arritmias, etc.) y ecocardiográficos (dilatación de cavidades, hipertrofia, trastornos de la motilidad parietal, función sistólica y diastólica) en pacientes con serología positiva y negativa.

Se realizó la identificación en 95 muestras (70 con serología positiva y 25 con serología negativa) de los polimorfismos A572D y H558R y la detección de ADN de *T. cruzi* circulante mediante reacción en cadena de la polimerasa y RFLP. Analizamos las

frecuencias alélicas y genotípicas comparando individuos seronegativos frente a seropositivos e individuos G1 (sin alteraciones) con los del G2 (alteraciones ECG y/o ecocardiográficas) mediante el análisis de la prueba de χ^2 y la regresión logística para calcular los odds ratio (OR) y los intervalos de confianza del 95% (IC) para la relación entre los polimorfismos del gen SCN5A y la susceptibilidad a las características clínicas. Un valor de $p < 0,05$ se consideró estadísticamente significativo. El poder estadístico de nuestro estudio se calculó con la Calculadora de potencia genética para estudios de casos y controles en una etapa.

Para el polimorfismo A572D en los pacientes seropositivos la frecuencia de los genotipos fue la siguiente: el 56,7% de los pacientes presentó el genotipo AA, el 35,8% el genotipo AD y el 7,5% DD. En los seronegativos el genotipo homocigota AA también fue el más frecuente (56,5%). En el genotipo más prevalente, las manifestaciones clínicas que se presentaron con mayor frecuencia fueron: las palpitaciones, la disnea, la disnea paroxística nocturna, el angor y el dolor precordial atípico. Dentro de las alteraciones en el electrocardiograma se encontraron: el bloqueo completo de rama derecha, el hemibloqueo anterior izquierdo, el bloqueo AV, la fibrosis, la dilatación de la aurícula izquierda, EV, ESV, QTc prolongado, trastornos en la repolarización ventricular y desviación del eje eléctrico. En el ecocardiograma se objetivó el remodelado concéntrico y la hipertrofia del ventrículo izquierdo, los trastornos de la motilidad parietal, el deterioro de la función sistólica del VI (FE deteriorada), la disfunción diastólica y las valvulopatías. No se puso en evidencia que la presencia del genotipo homocigota o heterocigota confería mayor riesgo al desarrollo de cardiopatía, tanto en serología positiva como negativa.

Para el polimorfismo H558R, el 35,7% de los pacientes presentó el genotipo CC, el 48,5% TC y el 15,8% TT. El genotipo TC también se presentó con mayor frecuencia (48%) entre los pacientes seronegativos. En el grupo (TC) con serología positiva predominaron los síntomas y signos de insuficiencia cardíaca descompensada como: los rales crepitantes, la ingurgitación yugular, la hepatomegalia, la ortopnea y el angor; en el electrocardiograma bloqueo de rama derecha e izquierda, HBAI y trastorno de repolarización, mientras que en el ecocardiograma dilatación de cavidades izquierda e hipertrofia. Los pacientes portadores del genotipo CC con serología negativa presentaron mayor número de alteraciones en el

Electrocardiograma y Ecocardiograma como: bloqueo AV, arritmias, ESV, QTc prolongado, HVI, dilatación de cavidades izquierdas con deterioro de la función sistólica y trastornos de la motilidad, sin encontrar diferencias significativas entre los grupos. En éste polimorfismo tampoco pudo demostrarse asociación del genotipo con el fenotipo clínico. El análisis de regresión logística mostró que el alelo C en los pacientes seropositivos se asoció significativamente con un mayor riesgo de desarrollar trastornos de conducción intraventricular (OR: 0.37 IC95% 0.17 - 0.85 p: 0.0182) y trastorno de repolarización ventricular (OR: 0.39 IC95% 0.18 – 0.87 p: 0.02117), mientras que los los pacientes seronegativos evidenciaron disfunción diastólica (OR: 10 IC 95% 2 – 49.95 p: 0.0047).

Evaluamos si la presencia de ADN de *T. cruzi* podría conferir más riesgo de mayor sintomatología y trastornos de conducción, como fuera demostrado en trabajos previos, ya que la persistencia del parásito ejerce un estímulo de inflamación crónica y continúa dañando de manera sistemática al miocardio. Los presentes resultados no demostraron mayores síntomas y/o signos en pacientes PCR positivos, hecho que si bien acuerda con lo planteado por el estudio multicéntrico BENEFIT que estableció que realizar el clearance de parásitos mediante tratamiento no mejoró la evolución de la miocardiopatía, puede ser atribuible al número de pacientes estudiados.

La mitad de los pacientes con Enfermedad de Chagas exclusivamente, sin comorbilidades, presentó el genotipo heterocigoto para ambos polimorfismos.

En el presente trabajo demostramos que pacientes con serología positiva para Enfermedad de Chagas y portadores del alelo C del polimorfismo H558R tienen mayor susceptibilidad para los trastornos de conducción y repolarización del miocardio pudiendo ser utilizado el estudio de éste polimorfismo como posible marcador de aparición y progresión de las manifestaciones cardíacas de la Enfermedad de Chagas (30% de los pacientes infectados) y explicar por qué el resto permanece asintomático, permitiendo establecer un pronóstico y un tratamiento más adecuados para esta patología.

Summary

Chronic chagasic cardiomyopathy is the most expressive clinical manifestation of Chagas disease. Among other factors, the genetic variability of the patient could contribute to the establishment of different clinical forms, which can result from mild heart disease without consequences, to sudden death. The presence of polymorphisms in the genes that encode protein channels have been associated with various disturbances in cardiac electrical conduction. The objective of the present work was to establish a possible association between the A572D and H558R polymorphisms of genes that encode voltage-dependent Na^+ channel proteins, such as SCN5A (subunit α of sodium channel dependent voltage type V), with electrocardiographic, structural and clinic parameters, to establish a genetic risk profile in patients with Chagas disease.

For this, 189 patient patients who attended the Chagas office were studied, of which 129 (68.2%) presented positive serology for Chagas and 60 (31.8%) negative serology. The positive serology group had a mean age of 62.6 ± 13.78 , with 65% female (n: 84) and 35% male (n: 45). In 34.88% positive CRP was evidenced (in a single blood sample).

The mean age of the group with negative serology was 57.53 ± 17.8 , with 66.6% of individuals of the female gender (n: 40) and 33.4% of the male (n: 20). There was no significant difference in terms of the ages of both groups.

Clinical (digestive and cardiovascular symptoms, as well as pathological and epidemiological personal history), electrocardiographic (heart rhythm disorders, blockages, arrhythmias, etc.) and echocardiographic parameters (cavity dilatation, hypertrophy, parietal motility disorders systolic and diastolic function), were evaluated in patients with positive and negative serology.

The identification of the A572D and H558R polymorphisms and the detection of circulating *T. cruzi* DNA by polymerase chain reaction and RFLP was carried out in 95 samples (70 with positive serology and 25 with negative serology). We analyze the allele and genotypic frequencies comparing seronegative individuals against seropositive and G1 individuals (without alterations) with those of G2 (Electrocardiographic and / or

echocardiographic alterations) by analyzing the χ^2 test and logistic regression to calculate the odds ratio (OR) and 95% confidence intervals (CI) for the relationship between SCN5A gene polymorphisms and susceptibility to clinical characteristics. A value of $p < 0.05$ was considered statistically significant. The statistical power of our study was calculated with the Genetic Power Calculator for case studies and controls in one stage.

For the A572D polymorphism in seropositive patients the frequency of genotypes was as follows: 56.7% of the patients presented the AA genotype, 35.8% the AD genotype and 7.5% DD. In the seronegative the homozygous genotype AA was also the most frequent (56.5%). In the most prevalent genotype, the most frequent clinical manifestations were: palpitations, dyspnea, paroxysmal nocturnal dyspnea, angor and atypical precordial pain. Among the abnormalities in the electrocardiogram were: complete right bundle branch block, left anterior hemiblock, AV block, fibrosis, left atrial dilation, EV, ESV, prolonged QTc, ventricular repolarization disorders and deviation of the electric axis. The echocardiogram showed concentric remodeling and left ventricular hypertrophy, parietal motility disorders, impaired systolic LV function (impaired EF), diastolic dysfunction and valvular heart disease. It was not shown that the presence of the homozygous or heterozygous genotype conferred greater risk to the development of heart disease, both in positive and negative serology.

For the H558R polymorphism, 35.7% of the patients presented the CC genotype, 48.5% CT and 15.8% TT. The CT genotype also occurred more frequently (48%) among seronegative patients. In the group (CT) with positive serology, the symptoms and signs of decompensated heart failure predominated such as: crepitant rales, jugular engorgement, hepatomegaly, orthopnea and angor; in the right and left branch block electrocardiogram, HBAI and repolarization disorder, while in the echocardiogram, left cavity dilatation and hypertrophy. Patients carrying the CC genotype with negative serology had a greater number of alterations in the Electrocardiogram and Echocardiogram such as: AV block, arrhythmias, ESV, prolonged QTc, LVH, dilation of left cavities with impaired systolic function and motility disorders, without finding significant differences between the groups. In this polymorphism, no association between genotype and clinical phenotype could be demonstrated. Logistic regression analysis showed that the C allele in seropositive patients

was significantly associated with an increased risk of developing intraventricular conduction disorders (OR: 0.37 95% CI 0.17 - 0.85 p: 0.0182) and ventricular repolarization disorder (OR: 0.39 IC95 % 0.18 - 0.87 p: 0.02117), while seronegative patients showed diastolic dysfunction (OR: 10 95% CI 2 - 49.95 p: 0.0047).

We evaluated whether the presence of *T. cruzi* DNA could confer more risk of greater symptomatology and conduction disorders, as was demonstrated in previous studies, since the persistence of the parasite exerts a chronic and continuous inflammation stimulus, systematically damaging the myocardium. The present results did not show greater symptoms and / or signs in positive Polymerase chain reaction patients, a fact that although it agrees with that proposed by the BENEFIT multicentre study that established that performing clearance of parasites by treatment did not improve the evolution of cardiomyopathy, it can be attributable to the number of patients studied.

Half of the patients with Chagas disease exclusively, without comorbidities, presented the heterozygous genotype for both polymorphisms.

In the present work we show that patients with positive serology for Chagas disease and presented the C allele of the H558R polymorphism have a greater susceptibility for conduction and myocardial repolarization disorders. The study of this polymorphism could be used as a possible marker of the appearance and progression of the cardiac manifestations of Chagas disease (30% of infected patients) and explain why the rest remain asymptomatic, allowing to establish a more adequate prognosis and treatment for this pathology.

Introducción

La enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana es una antropozoonosis causada por el parásito *Trypanosoma cruzi*. Es una afección potencialmente mortal, con una elevada morbi-mortalidad (Milei y col.2009; Rassi y col 2000- 2010; Gonzalez 2011).

Representa una importante una carga social y económica; se estiman unos 6 a 7 millones de personas infectadas, unos 64 millones de personas bajo riesgo de contraerla en 21 países endémicos y en una decena de países no endémicos del mundo desarrollado, debido a los movimientos migratorios, determinando una afectación de carácter global más allá de los límites geográficos naturales (WHO 2019).

Se acepta en nuestro país una tasa del 7,2 – 7,5% de seroprevalencia para la población general, con alrededor de 2.300.000 infectados y porcentajes regionales variables (Mitelman 2016; OPS 2018).

La cardiopatía chagásica es una miocardiopatía inflamatoria crónica que se desarrolla en aproximadamente un tercio de las personas infectadas (Bonney y col 2018) y es en nuestro medio la más frecuente y severa consecuencia clínica de la infección. Se encuentra asociada con arritmias malignas, trastornos de la conducción, insuficiencia cardíaca y embolia pulmonar con una mortalidad anual de aproximadamente el 4% entre los pacientes seguidos en forma ambulatoria (Rassi y col 2006; Rassi y col 2017). La muerte súbita y la progresión de la insuficiencia cardíaca representan los mecanismos de muerte principales en ésta afección (Vinicius Simões y col 2018).

La génesis de la miocardiopatía chagásica crónica, es sin lugar a dudas multifactorial. Los variados mecanismos que conducen a la destrucción de los miocitos, la infiltración de células mononucleares, la fibrosis y el edema, han sido ampliamente estudiados durante más de 100 años (Bonney y col 2008) aunque la información de la afectación de la función cardiovascular en pacientes y modelos experimentales, así como porqué algunas madres chagásicas transmiten la enfermedad a sus hijos y otras no, es todavía limitada.

En la actualidad está cobrando relevancia el conocimiento de la composición genética del parásito infectante y del huésped como un factor de riesgo que puede agravar las manifestaciones clínicas. Se considera entonces a la enfermedad como el producto, de dos genomas coevolucionarios: el del parásito y el del huésped (Tarleton 2003; Ayo y col 2013; Cunha y col 2014).

Resulta indispensable tener en cuenta que el *T. cruzi* comprende un conjunto de poblaciones de cepas que circulan entre vectores, hombres y reservorios domésticos y selváticos (Toledo y col. 2003; Guedes y col. 2004).

Cada una de las cepas del *T. cruzi* consiste en una variedad de subpoblaciones, con características biológicas, bioquímicas, inmunológicas y genéticas diferentes (Brenner 1992; Gomes y col 1998). En este sentido, se ha descrito que el *T. cruzi* tiene una estructura clonal y las cepas infectivas son a menudo multiclonales, por lo que la variabilidad genética del parásito, debe estar relacionada con el tropismo del mismo a los diferentes órganos del huésped (Vago y col. 2000; Andrade y col 2002) y por lo tanto, con la forma clínica de la enfermedad.

Algunas cepas prefieren parasitar células musculares (esqueléticas o cardíacas) por lo que se las considera miotrópicas; otras prefieren células mononucleares fagocíticas por lo que son consideradas reticulotrópicas; y un tercer grupo prefiere otros tipos de tejidos tales como nervioso, reproductor, etc (Andrade 1999).

La presencia de antígenos o del *T. cruzi* en la fase crónica, tanto en ratones como en lesiones inflamatorias en humanos, demostró ser un elemento esencial y directo en la perpetuación de la inflamación miocárdica. Es decir, que la estimulación antigénica persiste en la fase crónica, aunque no sea detectado el parásito por microscopía (Andrade 1992; Jones y col 1993, Schijman y col 2004; Gonzalez 2011). Un informe reveló también, la relación entre una elevada parasitemia y la severidad de la afectación (Basquiera y col 2003).

Debido a la gran heterogeneidad en las manifestaciones clínicas, evolución y pronóstico, no solo deben tenerse en cuenta factores relacionados con el agente etiológico, sino también

con el huésped, el que puede tener condiciones subyacentes o predisponentes para desarrollar formas clínicas más graves.

De Carvalho, AC y col (1994) observaron que la infección por *T.cruzi* puede modificar la función de los canales iónicos del corazón, sugiriendo que esos cambios caracterizarían los disturbios en la conducción de la Enfermedad de Chagas.

Los canales de sodio voltaje dependientes tienen un rol central en el inicio de la velocidad de conducción como en la repolarización del cardiomiocito. En recientes estudios, se encontraron asociaciones de variantes genéticas de proteínas participantes de la transmisión del impulso eléctrico en el corazón con alteraciones eléctricas o arritmias e hipertrofia ventricular izquierda. Variantes genéticas que explican el cambio en el trazado del intervalo QT del ECG que pronostican muerte súbita y/o infarto de miocardio pueden brindar información pronóstica adicional (Andrade 1992; Jones y col 1993, Schijman y col 2004; Gonzalez y col 2011).

Dado el papel fundamental que desempeña canal de sodio voltaje dependiente, tipo V (SCN5A) en la electrofisiología cardíaca, el gen ha sido ampliamente examinado para las diferentes variantes génicas en un amplio rango de poblaciones y patologías.

Se ha determinado que, individuos sanos albergan variantes en el gen de subunidad alfa del canal de sodio voltaje dependiente, tipo V, (SCN5A) que fundamentan implicancias clínicas como arritmias múltiples, síndrome de Brugada, defectos de la conducción y muerte súbita (Olsen y col 2012).

La comparación de la presencia de ciertos polimorfismos del gen de SCN5A con el trazado electrocardiográfico de pacientes chagásicos y no chagásicos, con y sin patología cardíaca, es un enfoque prometedor para investigar la aparición y la variedad de la sintomatología cardíaca característica del paciente chagásico. Esta información contribuiría a explicar la heterogeneidad sintomatológica, y detectar un perfil genético de riesgo que predeciría la evolución clínica del paciente chagásico a lo largo de su vida.

Origen de la Enfermedad de Chagas

Se ha estimado que el *T. cruzi* emergió como especie hace 100 – 150 millones de años. Inicialmente eran parásitos monogenéticos de insectos no hematófagos. Cuando los insectos se hicieron hematófagos por su necesidad de hierro, los tripanosomas a su vez, sufrieron cambios morfológicos y funcionales que les permitieron circular en la sangre de los vertebrados, tales como una membrana ondulante y la presencia de flagelo (Coura 2007).

La enfermedad se inició entre animales silvestres. El compromiso humano surgió accidentalmente en relación a su presencia en zonas naturales de infección. El *T. cruzi* puede parasitar y completar su ciclo en diversas especies de reptiles, aves y mamíferos (Coura 2007).

Otro elemento fundamental en la evolución de la enfermedad, es la colonización de los insectos vectores en regiones peridomiciliarias debido al desmonte y el desplazamiento de los animales silvestres que les servían de alimento. Evolucionando y adaptándose a ésta nueva situación los vectores comenzaron a alimentarse de la sangre humana y de los animales domésticos, involucrando a la especie humana en la cadena epidemiológica.

Agente etiológico

El agente etiológico de esta enfermedad es el *Trypanosoma cruzi*, protozoo flagelado perteneciente a la familia Trypanosomatidae. Los protozoos pertenecientes a ésta familia difieren de muchas otras células eucariotas por contener estructuras citoplasmáticas y organelas especiales. Una característica en común es la presencia del mitocondrion y el glicosoma además del mencionado kinetoplasto. Dentro del género *Trypanosoma* encontramos especies representativas de importancia médica como son *T. cruzi* y *T. brucei*. El *T. cruzi* está muy adaptado a la forma de vida parasitaria, por lo que es capaz de colonizar casi todos los tejidos de los cientos de especies de mamíferos que pueden ser sus hospedadores (Figura1).

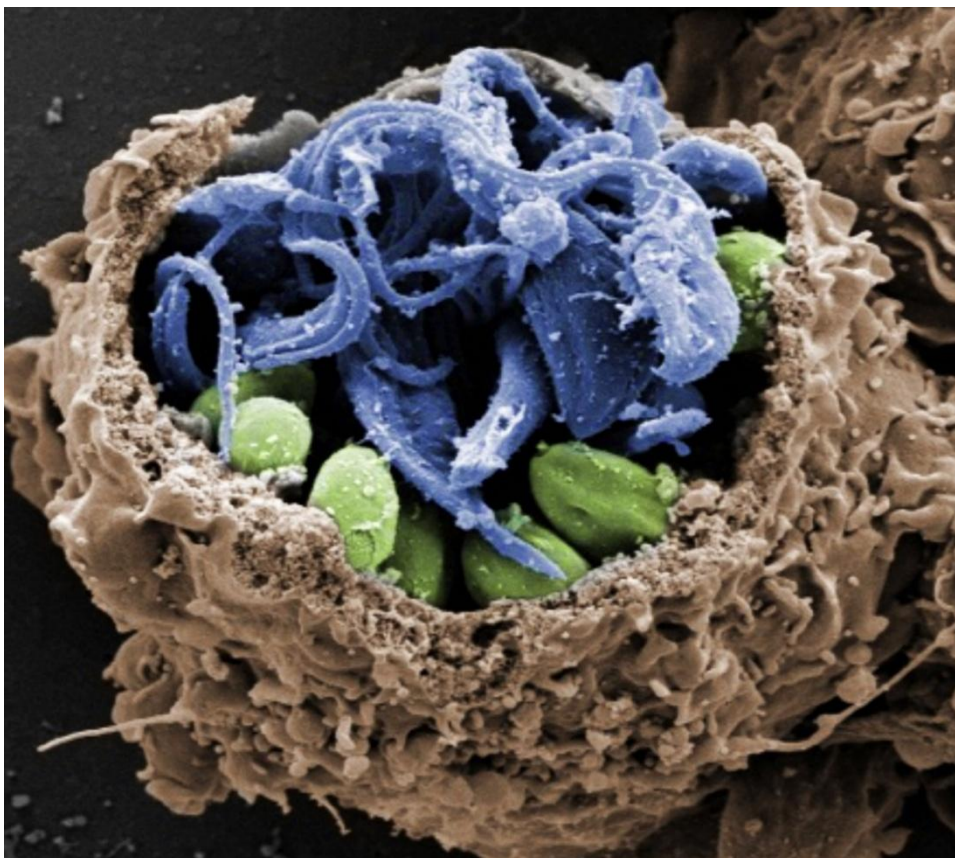


Figura 1. Tripomastigotes de *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico de la enfermedad de Chagas, en células del sistema inmunológico humano (macrófagos).
<http://labram.sites.unifesp.br/2-labram/198-home-page>

Variabilidad genética del *Trypanosoma cruzi* y su relación con la patogenicidad

La especie *T. cruzi* es muy diversa genéticamente; se compone de subpoblaciones que exhiben un alto grado de polimorfismo cuando son analizadas por diferentes métodos bioquímicos y moleculares (Buscaglia y Di Noia, 2003; Macedo et al, 2004), presentando distintas características biológicas, inmunológicas, bioquímicas y distinto comportamiento frente a la acción de fármacos (Brenner y col 1992; Williams-Blanger y col 2011).

Estas subpoblaciones están compuestas por cepas que circulan en los ciclos doméstico y silvático de la enfermedad, que incluyen al hombre, insectos vectores y reservorios. (Zingales y col 2009; Guhl y Ramírez 2011, Gonzalez 2011; Zingales y col 2012).

En el año 2009 se acordó un consenso entre expertos para clasificar las cepas de *T. cruzi* en seis unidades discretas de tipificación, teniendo en cuenta los estudios filogenéticos más recientes (Zingales y col 2009; Cura y col 2012).

Se reconocen seis genotipos principales o 'Unidades de escritura discretas' (DTU), denominadas de Tc I a Tc VI (Zingales y col 2009; Guhl y Ramírez 2011; Gonzalez 2011; Zingales y col 2012; Ihle-Soto 2019).

La heterogeneidad genética se ha relacionado con la distribución geográfica, patogenicidad, características clínicas y respuesta al tratamiento (Pérez- Molina y Molina 2018).

La UDT más frecuente es la Tc I, con amplia distribución en el continente americano (norte de Sudamérica, América Central y México, también hallado en muestras de pacientes cardiopatas de Argentina; constituye el genotipo principal en los ciclos silvestres de transmisión.

Tc II, Tc V y Tc VI se asocian al ciclo doméstico de transmisión (Lages-Silva y col 2006). Tc II predomina en la región Este y central de Brasil, y se encuentra implicado en casos de mega síndromes digestivos y cardiopatía. Tc V es la causa principal de enfermedad de Chagas en la zona del Gran Chaco, que abarca regiones del norte de Argentina, Paraguay, Bolivia, Chile y sur de Brasil.

Tc VI se encuentra asociado al ciclo doméstico y peridoméstico en el cono sur de América Latina (Cardinal y col 2008; Enriquez y col 2012).

Tc III presenta una distribución a lo largo de América del Sur, desde el oeste de Venezuela hasta el Gran Chaco argentino. Se asocia a infección de distintos animales reservorios.

Se ha demostrado que pueden presentarse múltiples variantes de la misma DTU, como también pueden transmitirse simultáneamente poblaciones multiclonales (Macedo y col 2001; Yeo y col 2007).

Ciclo de vida del *Trypanosoma cruzi*

Cuando un triatomíneo se alimenta de la sangre de un mamífero infectado, ingiere tripomastigotes, que se dirigen al intestino anterior del insecto y comienzan a diferenciarse, pasando por estadio de amastigotes, esferomastigotes y finalmente en tripomastigotes, con alargamiento del cuerpo celular y desarrollo de flagelo; el parásito sufre entonces una metacicloogénesis, diferenciándose en tripomastigotes metacíclicos, ubicándose en el intestino posterior y representando la forma infecciosa para los mamíferos.

En el mismo momento que el triatomínio se alimenta, defeca, ingresando los tripomastigotes por la herida de la piel o por mucosas y alcanzan el torrente sanguíneo del huésped. Allí son fagocitados por los macrófagos y llevados al hígado, bazo, ganglios linfáticos y músculos esquelético y cardíaco, donde se forman pseudoquistes de amastigotes. Se inician numerosos ciclos de división hasta que se diferencian en tripomastigotes y se rompen los pseudoquistes, para infectar nuevas células (Tyler y Engman 2001; Coura 2007; González 2011). Ver Figura 2.

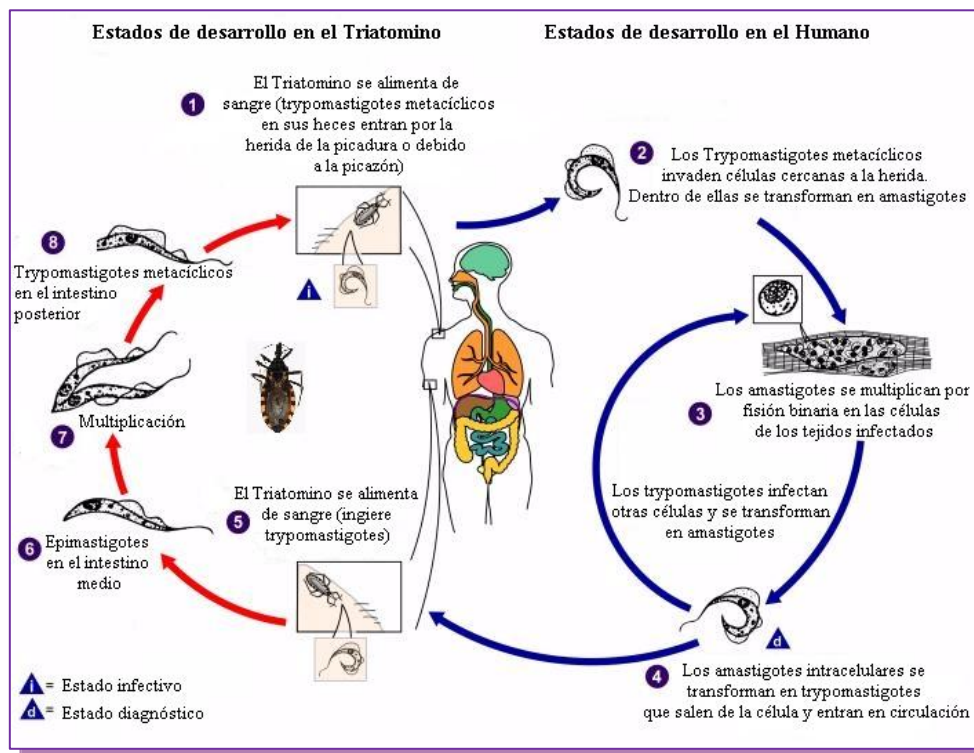


Figura 2. Ciclo del *Trypanosoma cruzi*.

Formas de Transmisión

La transmisión de la enfermedad de Chagas puede realizarse a través de la vía vectorial, transfusional, transplacentaria o congénita, por trasplante de órganos de donantes infectados, accidentes de laboratorio y la vía oral. Actualmente la transmisión vectorial y Transfusional están en descenso debido a los programas de erradicación de vectores y los controles serológicos en los bancos de sangre (OPS 2018).

La transmisión congénita es considerada en la actualidad la de mayor importancia epidemiológica (OMS 2016; OMS 2018) y responsable en gran parte de la aparición de la enfermedad en regiones no endémicas y su globalización (Schmunis 2007; Kemmerling y col 2010).

Se estima que la transmisión congénita ocurre entre el 4 y 7% y los principales determinantes son: la parasitemia materna, la respuesta inmune celular y el tipo de unidad discreta del parásito (UDT); en Brasil el Tc II comparado con Tc V se asocia a menor transmisión (Perez –Molina y Molina 2018).

La vía oral se establece por la ingesta de bebidas y/ o alimentos contaminados con excremento o *T. cruzi* infectados. Es una forma grave y aguda, que cursa con una invasión multitisular, debido probablemente a la inoculación de una elevada carga parasitaria y facilidad de penetración a través de la mucosa gastrointestinal, que es altamente permeable al parásito (Shikanai-Yasuda y col 2012).

Actualmente cobra importancia epidemiológica, siendo la forma más frecuente de transmisión en la región de la amazonia brasileña y se asocia con mayor prevalencia y severidad del compromiso miocárdico (Ianniy Mady 2005; Barbosa-Ferreira y col 2010; Rodrigues y col 2016).

La vía vectorial se establece por insectos de más de 144 especies distribuidos en toda América Latina. En nuestro medio, el *Triatoma infestans* es la especie más importante, siendo altamente antropofílico con las tasas más altas de infección (Silveira 2011; Ferreira Bellini y col 2012).

Se produce la transmisión por el contacto con las heces de insectos infectados, sobre la herida cutánea o en contacto con las mucosas, luego que se alimenta de la sangre humana (hematófagos). Tienen hábito domiciliario, principalmente en grietas y huecos de casas mal construidas en regiones rurales y peridomiciliario, entrando en actividad durante el período nocturno (OMS 2015).

La vía de ingreso del parásito tiene implicancias clínicas y pronósticas. Por ejemplo el período de incubación por vía oral es de 3 a 22 días, por vía vectorial 4 a 15 días, Transfusional 8 a 120 días y a través de transplante de 23 a 240 días (Wendel 2010; Alarcón y col 2016).

El estado clínico de los pacientes, el tiempo entre el diagnóstico y el tratamiento y la vía de transmisión son importantes en los índices de mortalidad, siendo estimada entre el 8 y 35% para la vía oral en superioridad a la vía vectorial, considerada menor al 5% (Wendel 2010; Assi y col 2010; Shikanai-Yasuda y col 2012).

Aspectos clínicos de la Enfermedad de Chagas

La enfermedad de Chagas comprende una etapa aguda, la cual puede ser asintomática o sintomática y una etapa crónica, con o sin patología demostrada, de acuerdo a la clasificación del consenso del Comité Científico de Enfermedad de Chagas de la Federación Argentina de Cardiología y del Consejo de Miocardiopatías y Enfermedad de Chagas de la Sociedad Interamericana de Cardiología (Mordini 2010).

Se ha puesto en evidencia que el curso clínico depende de diversos factores como por ejemplo: el grupo genético y la cepa del *T. cruzi* y las DTU, la magnitud del inóculo, la vía de transmisión, si es una infección nueva o reinfección, el estado inmunológico y nutricional del huésped, etc. (Andrade y col 2000; Coura 2007; Reis Machado y col 2014).

Etapa aguda

La forma aguda se presenta de manera asintomática u oligosintomática con mayor frecuencia, y durante los primeros años de vida generalmente (Perez Molina y Molina 2018).

Los síntomas descritos incluyen fiebre, diaforesis, mialgias, linfadenopatía, hepatoesplenomegalia, náuseas, vómitos, diarrea y anorexia (Tanovitz 1992; Madoery 1993).

El chagoma de inoculación más conocido y frecuente es el denominado “complejo o síndrome oftalmoganglionar” (Romaña-Mazza) que comprende los siguientes elementos patológicos: edema unilateral, bipalpebral, eritema, adenopatía preauricular satélite (por linfadenitis aguda o crónica), adenopatía grande o ganglio satélite (ganglio perfecto de Mazza), conjuntivitis, dacrioadenitis (inflamación de la glándula lagrimal), dacriosistitis (colección lagrimal serosa), edema en hemicara y exoftalmo por inflamación del tejido retroorbitario (Romaña 1963).

Otras lesiones cutáneas son el lipochagoma geniano y los Chagomas hematógenos o metastásicos que se presentan clínicamente como placas erisipelatoides o furunculoides, acompañados de adenopatías regionales.

En la fase aguda, el daño orgánico está asociado con la infección y la multiplicación parasitaria en los diferentes tejidos, como el miocardio, sistema nervioso, tracto digestivo, sistema linforreticular y se correlaciona con elevada parasitemia (Simões y col 2017).

Ésta fase dura entre 4 y 8 semanas con buen pronóstico generalmente, solo en el 5% de los casos se manifiestan formas graves que incluyen miocarditis aguda, derrame pericárdico y meningoencefalitis (riesgo de mortalidad 0.2 - 0.5%). La parasitemia desciende sustancialmente desde los 90 días en adelante para ingresar a la fase crónica (Perez-Molina y Molina 2018).

Las manifestaciones de la miocarditis no difieren de otras etiologías presentando disnea, astenia y otros síntomas de insuficiencia cardíaca.

El ECG puede mostrar taquicardia sinusal, latidos ectópicos ventriculares, complejos QRS de bajo voltaje, bloqueo de rama, trastorno difuso de la repolarización ventricular, bloqueo aurículo ventricular de primer grado o más avanzado.

Los hallazgos asociados a un peor pronóstico en ésta etapa son el bloqueo de rama derecha, la fibrilación auricular y las arritmias ventriculares.

La radiografía de tórax pone en evidencia aumento de la relación cardiorácica cuando se asocia a cardiomegalia y/o derrame pericárdico.

El ecocardiograma muestra con frecuencia derrame pericárdico, cambios segmentarios en la movilidad parietal e insuficiencia de las válvulas mitral y tricúspide y, en menor medida dilatación de cavidades y disminución de la función sistólica global. Las alteraciones suelen resolverse durante el primer año de seguimiento habitualmente (Dias y col 1956; Coura y col 2013).

El diagnóstico se realiza por la detección de los parásitos circulantes en sangre o fluidos o de su material genético (PCR), a través de diferentes métodos como el xenodiagnóstico, biopsia de vísceras afectadas o lesiones cutáneas, con la presencia de tripomastigotes y/o nidos de amastigotes.

Etapa crónica

Aproximadamente el 70% de los pacientes luego de la etapa aguda permanecen asintomáticos, mientras que entre el 20 y 40% de los infectados luego de 10 a 30 años desarrollan enfermedad cardíaca, digestiva (megacolon, megaesófago, en menos del 10%) o mixta (Simões y col 2017; OPS 2017).

Sin patología demostrada

Se define por el diagnóstico serológico de infección crónica por *T. cruzi* en ausencia de síntomas y signos de enfermedad, con estudios normales de ECG, RX de tórax e imágenes digestivas.

Se considera que los pacientes en ésta condición, estarían en un verdadero estado de equilibrio entre el parásito y su sistema inmunológico (Coura 2007). Sin embargo, con

exámenes complementarios adicionales como la Ecocardiografía (disfunción diastólica), la angiocardiógrafa nuclear, el estudio hemodinámico y la evaluación autonómica, se pueden detectar precozmente alteraciones, aunque sin evidencia de mayor morbi mortalidad (Rassi y col 2000-2010; Gonzalez 2011, Gimenez y col 2016, Mordini 2018).

Con patología demostrada

Forma cardíaca

Se define a la miocardiopatía chagásica, como la enfermedad de Chagas con compromiso cardíaco, requiriendo la presencia de al menos una anormalidad típica en el ECG de los pacientes con serología positiva.

La Miocardiopatía chagásica dilatada, hace referencia al patrón hemodinámico, que se caracteriza por el deterioro de la función sistólica global o segmentaria y la presencia de dilatación del ventrículo izquierdo, de manera independiente a los hallazgos electrocardiográficos (Nunes y col 2013; Sabino y col 2013; Macado de Asis y col 2013).

Se estima que entre el 2 y 5% de los pacientes desarrollará nuevos trastornos electrocardiográficos y evidencia de cardiopatía por año.

La infección persistente, en equilibrio con la respuesta del sistema inmunológico del huésped, serían esenciales para el establecimiento y la progresión de la miocardiopatía (Machado y col 2012; Dutra y col 2014).

La cardiopatía chagásica se presenta como una miocarditis difusa, fibrosa, progresiva y crónica, que deteriora no sólo el miocardio, sino también al sistema especializado en la conducción eléctrica aurículo ventricular, el sistema nervioso autónomo y a la microcirculación (Andrade 1985; Milei y col 1991; Marin-Neto y col 2007), siendo éstos responsables del agrandamiento de cavidades, insuficiencia cardíaca, arritmias, fenómenos tromboembólicos y hasta la muerte (Braga y col 2016).

Las manifestaciones clínicas se describen en síndromes que a menudo coexisten:

Síndrome de insuficiencia cardíaca: cuando hay disfunción ventricular, se manifiesta precozmente con disnea de esfuerzo y fatiga. Conforme va progresando pueden aparecer

edemas, ingurgitación yugular, hepatomegalia y ascitis, hasta presentar anasarca o caquexia cardíaca, similar a otras etiologías. Se ha descrito un deterioro más marcado y precoz del fallo ventricular derecho, como una disfunción biventricular concomitante de manera más frecuente en pacientes infectados por T. cruzi (Terhoch y col 2018).

Fenómenos tromboembólicos: son manifestaciones frecuentes, tanto en la circulación sistémica como en la pulmonar. Debidas a la presencia de trombos murales en las cámaras cardíacas o en las venas periféricas. Son causa importante de accidente cerebrovascular embólico, a menudo, la primer manifestación. Los factores asociados a mayor riesgo son: la dilatación de cavidades, la presencia de aneurisma apical, la insuficiencia cardíaca y la fibrilación auricular (Cardoso y col 2014).

Manifestaciones arrítmicas: la cardiopatía chagásica es esencialmente una cardiopatía arritmogénica, con particularidades fisiopatológicas sobre otras etiologías. Se han descrito todo tipo de arritmias auriculares y ventriculares, incluyendo el bloqueo AV intermitente o completo. Pueden cursar en forma asintomática o presentar palpitaciones, síntomas de bajo gasto cardíaco debido al síndrome de Stokes-Adams, presíncope, lipotimia o síncope.

Estos episodios pueden corresponder a taquicardia ventricular sostenida o no sostenida, con o sin inestabilidad hemodinámica o a bradiarritmias por bloqueo aurículo ventricular (Rassi y col 1995).

La presencia y la densidad arrítmica, se correlaciona en muchos casos, con el deterioro de la función ventricular, pero puede ocurrir con la función preservada, constituyendo la forma arritmogénica aislada de la enfermedad, característica que la distingue de la enfermedad arterial coronaria y otras etiologías.

La presencia de fibrosis (especialmente en la región posterolateral del VI), la formación de circuitos y macroentradas son esenciales en el mecanismo de la arritmia ventricular severa.

Además de la fibrosis demostrada por RMN, otro mecanismo fisiopatológico que potencialmente desencadena arritmia ventricular severa y la muerte súbita es la denervación simpática extensa (Torreño y col 2015).

La muerte súbita: se estima que constituye la principal causa de mortalidad (55 al 65% de las muertes).(Rassi y col 2001).

Puede ser desencadenada por taquicardia o fibrilación ventricular (probablemente en 80-90% de los casos), y con menos frecuencia, por asistolia o bloqueo AV completo (Mendoza y col 1986).

Manifestaciones anginales: la precordialgia atípica es frecuente y hay evidencias que sería consecuencia de los trastornos microcirculatorios desarrollados durante la enfermedad. (Marin Neto y col 2007- 2014; Radico y col 2014).

Forma digestiva

Es menos frecuente que el compromiso cardíaco (10- 21%) y ocurre principalmente en los países del cono sur, tales como Brasil, por lo que se postula que es debido a la distribución geográfica de los diferentes genotipos del *T. cruzi* (Miles y col 2003; Messenger y col 2015).

El mecanismo de afectación de las vísceras digestivas, es la reducción del número de neuronas de los plexos mioentéricos del esófago y colon, que conduce a trastornos en la motilidad y dilatación de los mismos (Lopes y Chapadeiro 1997; Prata 2001; Dias y Macedo 2005).

El compromiso esofágico puede ser asintomático, evidenciarse por acalasia o megaesófago severo. Las manifestaciones clínicas incluyen: disfagia, odinofagia, reflujo esofágico, pérdida de peso, aspiración y tos (Atias 1994; Brücher y col 2001).

El megacolon se presenta con constipación crónica y puede complicarse con fecaloma, vólvulo e isquemia intestinal. Suelen encontrarse comprometidos el recto y el colon sigmoides, no así las regiones proximales (de Oliveira y col 1998; Prata 2001; Madsuda y col 2009).

El pronóstico en general es favorable, excepto por la aparición de complicaciones. La afectación cardíaca y digestiva simultánea se presenta entre un 5 y 20% de los casos (Madsuda y col 2009).

Fisiopatogenia de la miocardiopatía chagásica crónica

Una vez que los tripomastigotes han alcanzado el torrente sanguíneo, son fagocitados por los macrófagos y leucocitos diferenciándose en amastigotes, para luego de varias divisiones pasar nuevamente a la circulación e invadir a las células diana, mecanismo que requiere la presencia de moléculas de superficie que incluyen las glicoproteínas gp82, gp30 y gp35 que inducen la movilización de calcio de reservorios intracelulares, a través de diferentes vías de señalización, (Yoshida 2006; Yoshida 2008) produciendo modificaciones del citoesqueleto y su endocitosis (Andrews 2002; Mattos y col 2019), reclutamiento y fusión de lisosomas (Jaiswal y col 2002) con la membrana plasmática en el sitio de invasión parasitaria. La Gp82 está ligada a la fosfolipasa C (PLC) y al inositol 1,4,5 trifosfato (IP3), mientras que la Gp 35/50 se relaciona con el incremento del AMP cíclico intracelular.

Otro factor que contribuye a la infectividad es la proteína cruzipain, secretada por *T. cruzi* que actúa sobre el cininógeno, produciendo bradicinina, lo que contribuye al incremento del calcio intracelular (Yoshida y Cortez 2008).

Se han propuesto numerosas hipótesis sobre el origen de las lesiones patológicas de la enfermedad, aunque sigue constituyendo todo un desafío para los investigadores (Levin 1996; Kiersenbaum 1998; Gonzalez 2011).

Durante la fase aguda, el daño tisular tiene relación directa con la presencia del parásito y la respuesta inmunológica, tanto celular como humoral para controlar la infección, que incluye la activación de la respuesta inmune innata (macrófagos y células natural killer), con la expresión de IL 12 y otras moléculas co estimuladoras que activan células T productoras de interferón gama y la producción de anticuerpos específicos (Teixeira y col 2002; Bonney y Engman 2015; Rassi y col 2017) .

Se objetiva necrosis de miocitos, con la presencia de amastigotes, edema intersticial, infiltrado mononuclear y polimorfonuclear y dilatación vascular. Debido al compromiso del endocardio se pueden poner en evidencia trombos murales.

La patogenia de la miocardiopatía chagásica crónica no se entiende completamente, a pesar de más de un siglo de investigación, el desafío más interesante yace en la compleja interacción entre el parásito y el huésped (de Oliveira 2018).

Se han propuesto dos mecanismos primarios en la génesis de las alteraciones cardíacas, que incluyen: la respuesta inmune desencadenada por los parásitos y fenómenos de autorreactividad y dos mecanismos secundarios: alteraciones neurogénicas y trastornos microvasculares coronarios (Rassi y col 2010; Marin Neto 2010).

Daño miocárdico relacionado directamente con la presencia del parásito y la respuesta inmune inducida por el mismo

La miocardiopatía chagásica se caracteriza por una inflamación crónica en respuesta a la presencia continua del *T cruzi* en los tejidos (Higuchi y col 1993; Bellotti 1996; Añez y col 1999; Tarleton 2001).

Durante la fase crónica, existe un bajo grado de parasitismo en las fibras miocárdicas y una falta de correlación entre los focos inflamatorios y los nidos de amastigotes, por lo que previamente se cuestionaba su participación en la patogenia (Köberle, 1968; Kalil y Cunha-Neto 1996).

Posteriormente con técnicas más sensibles (inmunohistoquímica, PCR e hibridación *in situ*), se pudo determinar la presencia de antígenos o material genético del parásito en sitios de inflamación, cobrando relevancia la persistencia en lesiones tisulares. (Ben Younes-Chennoufi y col 1988; Franco 1990; Higuchi y col 1993; Jones y col 1993; Bellotti y col 1996; Añez y col 1999).

Ha sido demostrado que la miocarditis chagásica, presenta las características observadas en las reacciones de hipersensibilidad retardada, con infiltrados principalmente de células mononucleares. (Andrade 1983; Higuchi y col.1993).

Estos hallazgos, junto a la presencia de inmunoglobulinas y proteínas del complemento en las lesiones cardíacas, demuestran la participación de la respuesta inmunológica en la patogénesis (Cunha- Neto y col 2006).

Durante la infección con *T. cruzi* pueden darse caminos divergentes según resulte de la compleja interacción entre el parásito y los componentes de la respuesta inmune. Entre estos últimos, las citoquinas inflamatorias juegan un rol fundamental. Así, citoquinas tipo 1 (IFN γ) y las pro-inflamatorias (TNF α , IL-1 β , IL-6, IL-12) son claves en la inducción de los mecanismos microbicidas pero, producidas en exceso o sostenidamente, pueden contribuir al daño tisular (Rev Savino y col 2007; Pellegrini y col 2011; Pissetti y col 2011; Aoki y col 2012).

Se ha demostrado que el INF- α y la quimioquina CCL2, inducen la secreción de factor natriurético atrial y se asocia con hipertrofia (Cunha-Neto y col 2005), mientras que la IL-18 y CCR7, causaron hipertrofia de cardiomiocitos y fibrosis.

Autorreactividad o mimetismo molecular?

La autoinmunidad como mecanismo de daño tisular sigue siendo debatido (Girones y col 2005, Bonney y Engman 2008).

Mientras que algunos autores sostienen que la similitud entre *T. cruzi* y epítomos del huésped desencadena la autoinmunidad, otros refieren que es una consecuencia de la destrucción celular y exposición de epítomos intracelulares al sistema inmunológico desencadenando la activación de linfocitos y la producción de auto- anticuerpos (Girones y col 2005).

Estudios en modelos experimentales y en pacientes infectados con *T. cruzi* han demostrado la presencia de auto-anticuerpos específicos para varios autoantígenos cardíacos, nerviosos y de otros tejidos del huésped, entre los que se pueden nombrar: neuronas, proteínas estructurales como la miosina, desmina y actina cardíacas; músculo cardíaco, liso y esquelético, receptores colinérgicos muscarínicos y receptores adrenérgicos (Cunha-Neto y col 2004; Lo Presti y col 2009).

Ha sido documentada la relación positiva que existe entre los anticuerpos anti – muscarínicos (Goin y col 1994), la disautonomía y la disfunción del nódulo sinusal, (Altschuller y col 2007), aunque sin correspondencia con el deterioro de la función miocárdica (Altschuller y 2007; Talvani y col 2006).

Se observó que los anticuerpos activaban a los receptores, aumentando el GMPc y disminuyendo el AMPc (Goin y col 1997), también acumulando inositoltrifosfato y estimulando la óxido nítrico sintetasa, generando un efecto inotrópico negativo (Sterin-Borda y col 1997).

La presencia de anticuerpos contra los receptores adrenérgicos B1 también fué estudiada.

Se puso en evidencia que generaba el aumento del AMPc, con la liberación de PGE 2 y TXB 2, activación de PKA y finalmente el aumento del calcio intracelular, que provoca a su vez, la inhibición de la Na^+ / K^+ -ATPasa y conduce al agotamiento intracelular de K^+ con la consecuente alteración en la contractilidad y en la generación y conducción de los impulsos eléctricos. (Borda y Sterin Borda 1996).

Alteraciones neurogénicas

Lo característico es la despoblación neuronal parasimpática, tanto en modelos animales como en humanos (Amorim y col 1982; Macahado y col 1998).

Según la hipótesis neurogénica (Köberle, 1959), el daño precoz e irreversible del sistema parasimpático durante la fase aguda, causa una cardiomiopatía catecolaminérgica, pero la evidencia es contradictoria.

Algunos autores en base a la información obtenida, sostienen que la disfunción autonómica, representa un mecanismo de compensación al deterioro y la dilatación del ventrículo izquierdo (Davila y col 1991; Davila Spinetti y col 1999).

Estos hallazgos llevaron a una nueva “Teoría neurogénica”, que considera la disfunción autonómica como secundaria a la dilatación ventricular y las alteraciones hemodinámicas, pero una vez instaladas, actúan de forma sinérgica con el parasitismo y la inflamación para causar más daño al miocardio (Davila y col 2004).

Daño microvascular

Muchos factores han sido propuestos en la génesis de estas lesiones. Se demostró que *T. cruzi* produce una neuraminidasa que elimina el ácido siálico de la superficie de las células

endoteliales, determinando la unión de la trombina y la agregación plaquetaria (Libby y col 1986).

El *T. cruzi* también produce tromboxano A₂ (TXA₂) (Ashton y col 2007), generando agregación plaquetaria y el espasmo vascular.

El parasitismo de las células endoteliales por *T. cruzi* ha demostrado aumentar la expresión de las moléculas de adhesión (Huang y col 1999), y la secreción de citocinas proinflamatorias (Tanowitz y col 1992) e iNOS (Huang y col 1999).

La inflamación también produce disfunción de las células endoteliales. Los macrófagos secretan TXA₂ y el factor activador de plaquetas (PAF) actúa sobre el endotelio y causa vasoconstricción (Rossi y Carobrez 1985).

Una teoría combinada que podría explicar el mecanismo patogénico

Sin dudas, en la miocarditis chagásica crónica, ninguna teoría individualmente explica completamente la génesis.

Con la perpetuación de la inflamación, la necrosis y la fibrosis cicatricial, se dañan todos los componentes del músculo cardíaco, el sistema de conducción, el sistema nervioso autónomo y la microvasculatura, dañando la función contráctil y generando inestabilidad eléctrica.

Susceptibilidad

Se ha demostrado que la susceptibilidad del huésped, probablemente reflejada por variaciones en la respuesta inmunológica, también contribuye al desarrollo de la miocardiopatía chagásica crónica (CCC) (Cunha-Neto y Chevillard 2014).

Polimorfismos en IL-1 (interleucina-1), CCR5 (C-C receptor de quimiocinas tipo 5), MCP-1 (quimioatrayente de monocitos) proteína-1), TNF- α (factor de necrosis tumoral), e IL-10 (interleucina-10) se han asociado con cardiopatía chagásica.

Polimorfismos genéticos externos de la respuesta inmune, incluyendo galectina-3, COX-

2 (ciclooxigenasa-2), actina y péptido intestinal vasoactivo, también han mostrado asociaciones diferenciales con presentación clínica y severidad en la enfermedad de Chagas.

Sin embargo, los resultados de las investigaciones genéticas siguen sin ser concluyentes y el campo está abierto a una mayor investigación (Frade y col 2013).

Se ha demostrado que las variantes genéticas de las proteínas que constituyen canales iónicos que pueden determinar cambios en la actividad eléctrica de células excitables y conferir susceptibilidad para diferentes arritmias (Shah y col 2011; Olsen y col 2012).

Estructura del canal de Sodio voltaje dependiente

Los canales de Na⁺ voltaje-dependientes están constituidos por una subunidad alfa (Nav1.5, 260 kDa) codificada por el gen SCN5A y una o más subunidades β (Navβ1.-4; 33-36 kDa) codificadas por los genes SCN1B-SCN4B (Morgan y col 2000; Goldin y col 2002).

La subunidad α

Es un complejo de heteromultimérico proteico integral que consta de cuatro dominios heterólogos (D1-D4), cada uno de los cuales contiene seis segmentos α-hélice transmembrana denominados S1-S6, de 19 a 27 aminoácidos respectivamente (Demarco y Clancy 2016). Figura 3.

Los extremos C- y N-terminal y los lazos de unión de los dominios entre sí son intracitoplasmáticos. Los segmentos S5-S6 y el lazo P de cada dominio forman el poro del canal que penetra en el interior de la membrana y contiene el filtro de selectividad del mismo (Yamagishi y col 2001; Yu y Catterall 2003; George 2005, Demarco y Clancy 2016).

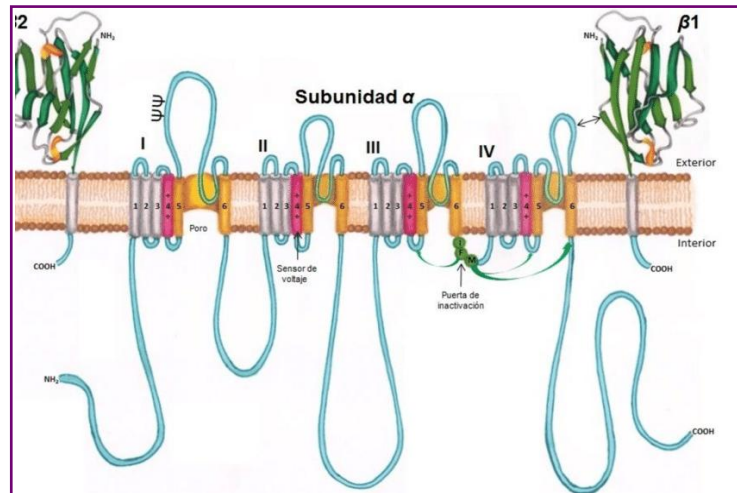


Figura 3. Subunidad α con que consta de cuatro dominios homólogos (D1-D4), cada uno de los cuales contiene seis segmentos α -hélice transmembrana (S1-S6, de 19 a 27 aminoácidos). (Nicholson 2007).

La mayor parte de los residuos que forman los segmentos S5 y S6 son hidrófobos, mientras que en los S1-S3 hay pocos residuos cargados (20 cargas negativas). Sin embargo, en el segmento S4 uno de cada tres residuos está cargado (arginina o lisina: 4 en DI S4, 5 en DII S4 y DIII S4 y 8 en el DIV S4). Por tanto, el segmento S4, que funciona como sensor de voltaje (Stühmer y col 1989; Yu y Catterall 2003; George 2005).

Durante la despolarización alrededor de 12 de las 22 cargas que forman parte del sensor de voltaje, se desplazan siguiendo un movimiento en espiral a través del campo eléctrico transmembrana, iniciando así un cambio conformacional que facilita la apertura del canal de Na^+ (Stuhmer y col 1989; Capes y col 2013).

Como consecuencia, tres cargas positivas del segmento S4 del dominio DIV, que previamente estaban embebidas en la membrana, quedan expuestas en la superficie externa y otras dos cargas quedan expuestas en la superficie interna (Yang y Horn, 1995; Catterall 2012).

La Subunidad α contiene también el receptor también para los anestésicos locales, antiarrítmicos y anticonvulsivos, formado por residuos localizados en el S6 de los dominios DI, DII y DIV (Phuong y col 2019).

Estudios de mutagénesis dirigida y la utilización de diversos fármacos y toxinas han revelado que en los lazos P del canal de Na^+ existen cuatro residuos cargados (asparragina en DI, glutámico en DII, lisina en DIII y alanina en DIV), el denominado "locus DEKA", que forma un anillo que, junto con otro anillo externo (formado por dos residuos glutámico, una metionina y una asparragina), conforman una estructura que determina la conductancia y la selectividad iónica (Noda y col 1989; Terlau y col 1991).

Subunidades β

Las subunidades β regulan la cinética de apertura-cierre del canal, la expresión de la subunidad α en la superficie de la membrana celular, su unión con otras moléculas de la matriz extracelular y del citoesqueleto.

Estas subunidades presentan un único dominio transmembrana, con un extremo N-terminal extracelular y un extremo C-terminal intracitoplasmático (Brackebury e Isom, 2011). El extremo extracelular presenta una secuencia homóloga a la superfamilia de las inmunoglobulinas (IgG), lo que sugiere que las subunidades β podrían actuar como moléculas de adhesión celular, que regularían la adhesión de los canales al sarcolema y facilitarían la interacción de los canales de Na^+ con gran una variedad de moléculas de señalización (Makita y col 1996; Isom 2001; Brackebury e Isom, 2011). De hecho, las subunidades β interactúan con varias proteínas de la matriz extracelular, el citoesqueleto (anquirinas), transmembrana (cadherinas, conexinas) o implicadas en el tráfico intracelular desde el retículo endoplásmico al sarcolema (p.ej. la glicerol-3-fosfato deshidrogenasa), o enzimas (Ca^{2+} /calmodulina proteína cinasa II o CaMKII). La subunidad $\beta 1$ altera la cinética y la densidad de los canales de Na^+ mediante la interacción del dominio C-terminal, quizás a través de la anquirina-B y/o las interacciones con otros componentes del citoesqueleto como la actina (Makielski y col 1996; Balser y col 2001).

Estados conformacionales del canal de sodio

Durante el potencial de acción (PA) cardiaco, los canales de Na^+ adoptan tres estados conformacionales: uno conductor (abierto-O) y dos no conductores (cerrado-C, inactivo-I) (Caterall, 2000; Balser, 2001). La transición entre éstos estados es un proceso voltaje y

tiempo dependiente que se conoce como gating.

Durante la diástole el canal se encuentra en un estado de C no-conductor y la probabilidad de que se abra es extremadamente baja. La despolarización de la membrana provoca un rápido aumento de la permeabilidad al Na^+ debido a la apertura (activación) de los canales desde el estado C (C - O), permitiendo la entrada de Na^+ durante 1-2 ms, lo que genera la corriente rápida de entrada de Na^+ (I_{Na}). A continuación, el canal se inactiva y cesa la entrada de Na^+ (O - I). El estado inactivo (O - I, R - I) predomina a niveles despolarizados del potencial de membrana (tejidos isquémicos, hiperpotasemia). La inactivación se inicia simultáneamente con la activación, pero debido a que el proceso de inactivación es más lento los canales permanecen abiertos de forma transitoria y generan la I_{Na} durante la fase 0 del potencial de acción. Los canales que se encuentran en estado inactivo no se pueden volver a abrir hasta que se mueven desde el estado I al estado C; a este proceso se le denomina reactivación del canal, y es un proceso necesario para que el canal pueda volver a abrirse. En condiciones fisiológicas, esta transición tiene lugar durante los primeros 50-100 ms de la diástole por lo que, considerando que en ritmo sinusal el intervalo diastólico es entre 500-700 ms, cuando llega el siguiente latido la mayoría de los canales estarán en el estado C y, por tanto, disponibles para volver a abrirse. El proceso de reactivación se inicia cuando el potencial de membrana alcanza potenciales más negativos que -60 mV y dura varios milisegundos tras la repolarización de la membrana. En ocasiones, los canales de Na^+ pueden transitar directamente desde el estado abierto al estado cerrado; a este proceso se le denomina deactivación del canal (Demarco y Clancy 2016).

La inactivación de la I_{Na} cardíaca sigue un proceso biexponencial, por lo que hablamos de una "inactivación rápida" y otra "lenta". Armstrong y Bezanilla (1977) propusieron el modelo de "bola y cadena" para explicar el proceso de inactivación rápida. Durante la despolarización, la compuerta de activación del canal se abre y la bola inicia un movimiento que permite su unión con la boca citoplasmática del canal a la que ocluye, impidiendo la entrada de Na^+ , por lo que el canal pasa al estado I. Se acepta que la "secuencia IFM" (isoleucina-fenilalanina-metionina) localizada en el lazo de unión entre los dominios DIII y DIV actúa como una partícula de inactivación que interactúa con diversos aminoácidos localizados en la porción intra citoplasmática del segmento S6 o en el

lazo S4-S5 del DIV; de esta forma ocluye y bloquea la porción intra citoplasmática del poro del canal, lo que resulta en la rápida inactivación del canal tras su apertura (Armstrong 1981; Stühmer y col 1989; Vassilev y col 1989; Patton y col 1992; West y col 1992; McPhee y col 1995- 1998; Rohl y col 1999; Catterall 2003; Ulbricht 2005). De hecho, mutaciones en el residuo fenilalanina1489 previene la inactivación (Kellenberger y col 1996), mientras que la inactivación se restaura con péptidos que contienen esta secuencia (Eaholtz y col 1994).

Igualmente, mutaciones en la propia compuerta de inactivación, en las regiones que sirven de receptor para dicha compuerta y en el segmento S4 IV que acopla la activación a la inactivación facilitan la reapertura del canal y producen un aumento de la amplitud de la I_{NaL} .

El extremo C-terminal de la canal, que estabiliza la inactivación y reduce su probabilidad de reapertura, también participa en el proceso de inactivación del canal Nav1.5 (Cormier y col 2002; Motoike y col 2004).

La inactivación lenta es un proceso que se prolonga durante varios cientos de ms, por lo que los canales que la presentan permiten la entrada de Na^+ durante las fases 1 y 2 del potencial de acción y podrían participar, en cierto grado, en la regulación de la duración del potencial de acción (DPA) auricular y ventricular (Carmeliet 1987; Balsler 2001; Ulbricht 2005). En condiciones normales, casi 99% de los canales de Na^+ que se han activado durante la fase 0 se encuentran en estado inactivo y un 1% de los canales de Na^+ persisten abiertos durante la fase de meseta del potencial de acción ya que presentan un proceso de inactivación lenta (Vilin y Ruben 2001). Pero aunque la magnitud de la corriente lenta de entrada (I_{NaL}) generada por estos canales que se inactivan lentamente es muy pequeña, la cantidad de Na^+ que transportan puede ser casi equivalente a la de la corriente pico (I_{Na}) ya que la entrada persiste durante varios cientos de milisegundos (Berecki y col 2010; Savio-Galimberti y col 2012).

Los Trastornos Relacionados con las mutaciones de SCN5A

Éstos trastornos pueden deberse a una pérdida o ganancia en la función del canal iónico,

aunque la expresión y gravedad está estrechamente relacionada a la alteración de otros canales que participan del potencial de acción como el canal de Ca^{+2} y canales de K^{+} (McNair 2004).

Dentro de las patologías asociadas se mencionan: el síndrome de Brugada, el síndrome de QT largo, la Fibrilación auricular, el síndrome del seno enfermo, el defecto de conducción cardíaca progresiva, el síndrome de muerte súbita del lactante, la miocardiopatía dilatada (McNair 2004), y la miocardiopatía arritmogénica del ventrículo derecho entre otras.

En general se puede asumir que el polimorfismo es una variación nucleotídica que no ocasiona cambio aminoacídico tal que determine un cambio en la función de la proteína, pero adquiere relevancia, ya que existen numerosos polimorfismos genéticos que determinan un aumento de la probabilidad de padecer una enfermedad en una población concreta.

El polimorfismo puede determinar con mayor precisión la expresividad de la enfermedad y / o severidad. Por ejemplo, H558R es el más frecuentemente observado en la población general, (con una prevalencia de 9 a 36%), su distribución varía entre las diferentes poblaciones étnicas (Ackerman y col 2004). La coexistencia de este polimorfismo y mutaciones de SCN5A pueden modificar las manifestaciones clínicas (Makielski y col 2003; Viswanathan y col 2004; Shinlapawittayatorn y col 2010).

El polimorfismo histidina-558-a-arginina (H558R) resulta de la transición de timina (T) por citocina (C) (dbSNP: rs1805124) en el gen SCN5A (en el enlazador citoplasmático entre los dominios I-y II).

Éste polimorfismo de un solo nucleótido ha sido identificado como un factor relevante en la expresión fenotípica coexistiendo con mutaciones arritmogénicas. En consecuencia, se cree que modula la expresión de genotipos arritmogénicos (Tan y col 2005; Campuzano y col 2009, Parisi y col 20013; Jiang y col 2014).

La variante genética A572D representa una sustitución de citosina (C) por adenina (A) en la posición del nucleótido 1715 (1715 c>a), que alanina, por ácido aspártico, en la posición del aminoácido 572. A572 se localiza en el enlazador DI-DII entre dominios de Nav1.5.

Han sido demostrado que canales de sodio que exhiben R558 / D572 presentan una disfunción similar a LQTS tipo 3 que bajo otros factores exógenos aumentaría el riesgo de arritmias.

Junbo y col (2018) estudiaron una mutación (A1180V) del SCN5A relacionada con la presencia de miocardiopatía dilatada precedida por bloqueo AV progresivo familiar de inicio en la adultez. La miocardiopatía dilatada en un porcentaje importante, corresponde a trastornos genéticos, entre ellos mutaciones de las proteínas del citoesqueleto, elementos contráctiles, proteínas de transporte de Ca^+ y en las subunidades del canal de Na^+ (Bienengraeber 2004; McNair 2004; Graham y Owens 2006; Olson 2006).

Si bien éstos trastornos se relacionaron inicialmente con defectos eléctricos, datos recientes sugieren que mutaciones en el canal de Na^+ tienen implicancias en la patogenia de la miocardiopatía dilatada, especialmente aquellas que representan una pérdida de la función (Olson y col 2005; Schulze-Bahr 2007) lo que trae como consecuencia probable, alteraciones en la homeostasis del Na^+ y Ca^{+2} celular, modificando el PH y generando compromiso del mecanismo de excitación- contracción y producción de energía (Frustaci y col 2005).

Se describen entonces trastornos en los genes que codifican las proteínas constituyentes del canal de sodio voltaje dependiente, tienen implicancias clínicas como la presencia de alteraciones eléctricas y en el músculo cardíaco, como la miocardiopatía dilatada (Yagihara y col 2016), sin embargo, dos de los polimorfismos mas frecuentes como H558R y A572D estudiados para numerosas canalopatías no han sido evaluados como factores de susceptibilidad para el desarrollo y progresión de la miocardiopatía chagásica.

Objetivos

- Establecer una posible relación entre la presencia del *T. cruzi* y la sintomatología clínica del paciente chagásico.

- Identificar una posible asociación entre presencia de polimorfismos de genes que codifican proteínas canales de Na⁺ dependientes de voltaje, como el SCN5A (subunidad α de canal de sodio voltaje dependiente tipo V), con parámetros electrocardiográficos, estructurales y clínicos, a fin de detectar marcadores genéticos que contribuyan a detectar en forma temprana alteraciones cardiológicas, como determinar la susceptibilidad al desarrollo de la cardiopatía.

Materiales y Métodos

Pacientes

Se incluyeron en el presente estudio 189 pacientes que concurren al Consultorio de Cardiología de la Clínica Sucre y del Hospital Nacional de Clínicas y que firmaron consentimiento informado. El Comité de Ética del Hospital Nacional de Clínicas - Universidad Nacional de Córdoba aprobó los procedimientos llevados a cabo para el presente trabajo (CIEIS HNC 118/2012 y 2/16/2017), que se ajustaron a los estándares éticos establecidos en la Declaración de Helsinki.

Criterios de inclusión:

Individuos de ambos géneros, que realizaron consulta cardiológica con serología positiva y negativa para la enfermedad de Chagas, con o sin sintomatología cardiovascular, con o sin cardiopatía.

Criterios de exclusión:

Individuos menores de edad, embarazadas y tratamiento antiparasitario previo.

A cada paciente, se le realizó un examen físico general, con valoración principal de la semiología cardíaca. Se indagó sobre los antecedentes familiares, cardiovasculares, epidemiología de la enfermedad de Chagas, sintomatología cardiovascular, tratamientos medicamentosos.

Todos los pacientes además fueron evaluados con técnicas no invasivas que se describen a continuación:

Electrocardiograma

Se llevó a cabo mediante un electrocardiógrafo Fukuda C110, realizándose las doce derivaciones en reposo. Los parámetros se midieron manualmente y representaron el promedio de al menos 3 latidos cardíacos sucesivos.

Se analizaron los siguientes elementos: ritmo y frecuencia cardíaca, tamaño, forma y duración de la onda P, del intervalo QT, del intervalo PR, del QRS, segmento ST, onda T. También se cuantificaron los trastornos de conducción identificando el bloqueo completo o incompleto de rama derecha (BCRD, BIRD), hemibloqueo anterior izquierdo (HBAI), bloqueo completo de rama izquierda (BCRI), bloqueo aurículo-ventricular de diferentes grados, también frecuencia y tipo de arritmias ventriculares, supraventriculares y trastornos de repolarización ventricular.

La corrección del intervalo QT se realizó según la fórmula de Bazett.

Empleando la fórmula de Bazett los valores obtenidos fueron los siguientes:

QTc normal = 400 – 440 ms (en adultos).

QTc Límite: Varones QTc entre 430-450 ms.

Mujeres QTc entre 451-460 ms.

QTc Elevado: Varones QTc > 450 ms.

Mujeres QTc > 470 ms.

Ecocardiograma

Los ecocardiogramas fueron realizados con un ecógrafo General Electric (Vivid 7) utilizando las ventanas estándar paraesternal, apical, subcostal y supraesternal, con el individuo en decúbito lateral izquierdo.

Se midieron manualmente las cavidades en modo bidimensional y modo M. Fueron evaluadas tanto la función sistólica como la diastólica con diversas técnicas como doppler color y doppler tisular. La motilidad de la pared fue descripta y se calculó la fracción de eyección por el Método de Simpson.

Se consignaron las medidas del área de la aurícula izquierda en cuatro y en dos cámaras, así como su longitud en ambas vistas. El cálculo del volumen auricular se efectuó de acuerdo con la fórmula: $\frac{8}{3} \pi [(A1)(A2)/(L)]$, donde A1 es el área en 4 cámaras, A2 el área en 2

cámaras y L la longitud de magnitud más pequeña entre ambas vistas. Se obtuvieron la altura y el peso de cada paciente y se calculó la superficie corporal con el propósito de indexar los valores calculados en relación con la SC. En las siguientes Figuras se muestran el cálculo del volumen de la aurícula en dos y cuatro cámaras.

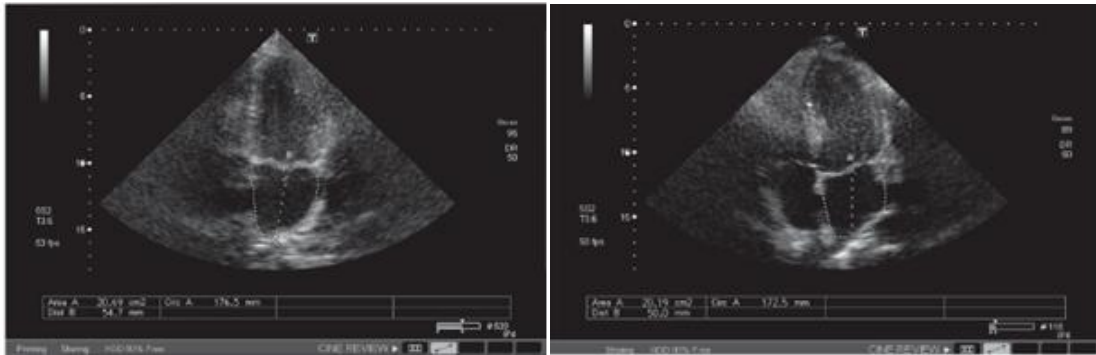


Figura 1. Cálculo del volumen de la aurícula en dos y cuatro cámaras

A todos los pacientes se les tomó una muestra de sangre con la que se realizaron los siguientes análisis:

1) Serología para Chagas

Inmunoensayo Enzimático (ELISA).

Hemaglutinación Indirecta (HAI).

Esta es la dupla serológica utilizada para diagnóstico serológico de Enfermedad de Chagas que establecen las Normas Nacionales. En caso que alguna de éstas resultara negativa se realizó una tercera reacción de inmunofluorescencia.

2) Presencia de *T. cruzi* en sangre periférica por medio de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) con una sola toma de sangre.

A 95 pacientes además se les realizó con esa misma muestra de sangre:

3) Determinación del polimorfismo A572D (rs36210423) del gen SCN5A

4) Determinación del polimorfismo H558R (rs1805124) del gen SCN5A

Todos los pacientes, teniendo en cuenta las pruebas serológicas para Enfermedad de Chagas, fueron clasificados de la siguiente manera:

- a) Pacientes con serología positiva menores de 60 años
- b) Pacientes con serología positiva mayores de 60 años
- c) Pacientes con serología negativa menores de 60 años
- d) Pacientes con serología negativa mayores de 60 años

La detección de *T. cruzi* en sangre periférica por medio de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) se realizó de la siguiente manera:

Extracción del ADN del *T. cruzi*:

La extracción de ADN de las muestras de sangre periférica de cada paciente se se realizó de acuerdo a lo descrito por Ávila y colaboradores (1991). Cada muestra de sangre se mezcló con igual volumen de guanidina 6M/EDTA 0,5M. El ADN se extrajo por técnicas convencionales con fenol: cloroformo: alcohol isoamílico (Lachaud y col, 2001) y luego se precipitó con etanol. Finalmente, la solución se resuspendió en agua estéril libre de nucleasas. Se conservó a -20° C hasta su uso (Wincker y col., 1994) para la amplificación del contenido de ADN del parásito por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

PCR para la determinación de *T. cruzi* en sangre periférica:

La detección de *T. cruzi* en cada muestra de sangre se determinó mediante la amplificación por PCR convencional de un fragmento nuclear de 188 pares de bases del ADN del parásito utilizando dos oligonucleótidos específicos para dicha región: **TCZ-1** (5'CGA GCT CTT GCC CAC ACG GGT GCT 3') y **TCZ-2** (5'CCT CCA AGC AGC GGA TAG TTC AGG 3') (Virreira y col, 2003).

La presencia de inhibidores en las muestras de ADN se descartó mediante la amplificación de un gen constitutivo del hospedador (β -actina) de 289 pb, utilizando los oligonucleótidos correspondientes: **β -act-fwd** (5'-CGGAACCGCTCATTGCC-3') y **β -act-rev** (5'-AAC CAC ACTGTGCCCATCTA-3'). Los componentes de cada una de las reacciones y las condiciones de amplificación para cada PCR se describen en las tablas 1 y 2 respectivamente. En todos los casos, los productos de PCR se separaron por electroforesis en gel de agarosa al 2,5% teñido con bromuro de etidio y se observaron bajo luz UV.

Tabla 1. Componentes de cada reacción para la amplificación de los diferentes marcadores moleculares.

Marcador molecular	Tris-	KCl	Cl ₂ Mg	dNTPs	Taq	Oligonucl.	ADN (muestra)	Volumen final
	Cl (pH 8,4)							
TCZ	10 mM	50 nM	1,5 mM	200 μM	0,5 U	25 pmols	~ 2,5 ng	25 μl
β-actina	10 mM	50 nM	1,5 mM	200 μM	0,5 U	10 pmols	~ 2,5 ng	25 μl

Tabla 2. Condiciones de reacción para la amplificación de cada marcador molecular.

Marcador molecular	Desnaturalización inicial	Número de ciclos	Cada ciclo consistió de:			Extensión final
			Desnaturalización	Hibridación	Extensión	
TCZ	4 min; 95°C	40	30 s; 95°C	30 s; 60°C	30 s; 72°C	5 min; 72°C
β-actina	4 min; 95°C	30	30 s; 95°C	30 s; 60°C	30 s; 72°C	5 min; 72°C

Las amplificaciones se llevaron a cabo en un Termociclador para ADN (Ivema T-18).

Las reacciones se realizaron por triplicado y se incluyó un control negativo en cada amplificación (ADN obtenido de pacientes con serología negativa para Chagas), un blanco de reacción y un control positivo (ADN de epimastigotes de cultivo de la cepa DM 28C de *T. cruzi*).

Electroforesis

En todos los casos 5 µl de producto de amplificación junto con 2 µl de buffer de siembra (0,25% de azul de bromofenol y 30% de glicerol en Tris 10 mM pH 8) se sembraron en un gel de agarosa en TAE 1X con bromuro de etidio (concentración final en el gel: 0,5 µg de EtBr/ml), y se corrió a 90 mV durante 1 hora. Como marcador de tamaño molecular se utilizó ADN ladder 100 pares de bases (Productos Biológicos -Universidad de Quilmes). Los geles se visualizaron en un transiluminador bajo luz UV.

Determinación del polimorfismo A572D (rs36210423) y del polimorfismo H558R (rs1805124) del gen SCN5A.

Estas determinaciones se llevaron a cabo en 95 pacientes con el objetivo de correlacionar la evaluación clínico-cardiológica, la serología positiva o negativa para Enfermedad de Chagas y los polimorfismos como factores predictores de perfil de riesgo. Los grupos de pacientes se dividieron de la siguiente manera:

G1: n = 24 (9 seronegativos y 15 seropositivos) pacientes sin alteraciones de Electrocardiograma ECG y / o Ecocardiograma (Eco).

G2: n = 71 (16 seronegativos y 55 seropositivos) con alteraciones de ECG y/o Ecocardiográficas.

G2 pertenecía a las clases funcionales II, III y IV de la New York Heart Association, respectivamente.

La determinación del polimorfismo A572D (rs36210423) y del polimorfismo H558R (rs1805124) del gen SCN5A se llevó a cabo de la siguiente manera:

Extracción del ADN de las muestras de sangre

Las muestras de sangre periférica de cada paciente se mezclaron con igual volumen de guanidina 6M/EDTA 0,5M (Ávila y col. 1991). El ADN se extrajo por técnicas convencionales con fenol: cloroformo: alcohol isoamílico (Lachaud y col. 2001) y luego se precipitó con etanol. Finalmente la solución se resuspendió en agua estéril libre de nucleasas. Se conservó a -4° C hasta su uso (Wincher y col. 1994) para la amplificación del contenido de ADN por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Se transportaron en condiciones de bioseguridad al Laboratorio de la Cátedra de Bioquímica y Biología Molecular. La pureza del ADN y la concentración se determinó por electroforesis en gel de agarosa al 0,8% con bromuro de etidio, seguido por la visualización en la luz ultravioleta, y midiendo la absorbancia a 260/280 nm (fluorímetro Qubit™ Fisher Scientific). Con esa muestra se analizaron los polimorfismos de SCN5A. Las reacciones de identificación de polimorfismos de genes se realizaron en un termociclador (modelo 9700; Applied Biosystems, Foster City, CA).

Identificación de la variación A572D del gen SCN5A

Se amplificó el exón 12 con el primer forward (GCCAGTGGCACAAAAGACAGGCT) y el revés (GGAAGTCTGATCAGTTTGGGAGA). Los productos de PCR se enfrentaron a la enzima de restricción Tsp45I (New England BioLabs, Ipswich, MA, EE.UU.), que escinde sólo el alelo D572. El heterocigoto para A572D produjo bandas de 518 pb (fragmento sin sitio de corte de restricción, alelo A572), y de 275 pb (con sitio de corte y representa el extremo 5' del alelo D572, que contiene el nucleótido del codón 558), y 243 pb (que representa el extremo 3' del alelo D572).

Los productos digeridos se visualizaron, luego de la electroforesis, por tinción con bromuro de etidio en un gel 2%.

Identificación de polimorfismos H558R del gen de SCN5A

100 ng de ADN genómico se utilizó para detectar el polimorfismo H558R en el gen de SCN5A mediante una reacción de amplificación con los siguientes cebadores: 5'-GGCCTCAGCAGGACTTCTAT-3' y 5'-TGTCTGGCGGGTGCTCTA-3'. El ciclo térmico contuvo una desnaturalización preliminar a 98 °C durante 5 min, seguido por 30 ciclos de desnaturalización a 98 °C durante 10 s, annealing a 55 °C durante 15 s, y elongación a 72 °C durante 30 s, seguido por elongación final a 72 °C por 7 min. Los productos de reacción de PCR se analizaron para sus variaciones genéticas mediante el estudio de la conformación de una sola hebra (SSCP). Los productos PCR se diluirán 1: 3 con buffer (95% de formamida, 0,05% azul de bromofenol y 0,05% xilencianol), produciendo una desnaturalizado a 99 °C durante 15 min, y se enfriaron inmediatamente en hielo durante 5 min. La electroforesis de los productos de PCR desnaturalizados se llevará a cabo en durante 15h a 4°C a 2 W, utilizando geles de poliacrilamida al 10%. El gel se tiñó con plata utilizando 0,1% de nitrato de plata durante 30 min, se lavó con agua doble destilada, se trató con NaOH, Na₂CO₃formaldehído hasta que el ADN monocatenario apareció. Las muestras se clasificaron en grupos basados en la apariencia de las bandas en ensayo de SSCP. Un tercio de las muestras fueron seleccionadas al azar para someterse a análisis de secuenciación. Los resultados de la secuenciación de las muestras seleccionadas al azar de cada grupo se consideraron como representativa para todas las muestras en el grupo.

Análisis Estadístico

Los análisis estadísticos se realizaron con el paquete de software estadístico Plink V1.07 (<http://zzz.bwh.harvard.edu/plink/>) e InfoStat 2018 (Purcell y col 2007). La desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg se determinó al 1% nivel de significancia en todos los grupos de individuos.

Para probar posibles asociaciones alélicas y genotípicas, analizamos las frecuencias alélicas y genotípicas comparando individuos seronegativos frente a seropositivos y también teniendo en cuenta la clasificación por serología entre individuos del G1 frente a G2 mediante el análisis de la prueba de χ^2 y la regresión logística para calcular los odds ratio

(OR) y los intervalos de confianza del 95% (IC) para la relación entre los polimorfismos del gen SCN5A y la susceptibilidad a las características clínicas. Un valor de $p < 0,05$ se consideró estadísticamente significativo. El poder estadístico de nuestro estudio se calculó con la calculadora de potencia genética para estudios de casos y controles en una etapa (<http://zzz.bwh.harvard.edu/gpc/>) (Purcell y col 2003).

Resultados:

Se estudiaron a 189 pacientes que concurren al consultorio de Chagas ante la sospecha epidemiológica, de los cuales 129 (68,2%) presentaron serología positiva para Chagas y 60 (31,8%) serología negativa.

El grupo de serología positiva tuvo una edad media de $62,6 \pm 13,78$, siendo del género femenino un 65% (n: 84) y del masculino un 35% (n: 45). En un 34,88 % se evidenció PCR positiva (en una única muestra sanguínea).

La edad media del grupo con serología negativa fue de $57,53 \pm 17,8$, con un 66,6% de individuos del género femenino (n: 40) y un 33,4% del masculino (n: 20). No se evidenció diferencia significativa en cuanto a las edades de ambos grupos.

Se evaluaron los parámetros clínicos (sintomatología cardiovascular y digestiva, tanto como los antecedentes personales patológicos y epidemiológicos), electrocardiográficos (trastornos del ritmo cardíaco, bloqueos, arritmias, etc.) y ecocardiográficos (dilatación de cavidades, hipertrofia, trastornos de la motilidad parietal, función sistólica y diastólica) entre pacientes con serología positiva y negativa subdividiéndolos según las edades (menores y mayores de 60 años) obteniendo los siguientes resultados:

Pacientes menores de 60 años (n: 65)

Los antecedentes personales patológicos de estos pacientes se muestran en la Figura 1, y se clasificaron en pacientes control (serología negativa) y pacientes con serología positiva para Chagas. Entre los pacientes seronegativos fue más frecuente la presencia de diabetes, hipertensión arterial y dislipemia, mientras que en los seropositivos las arritmias y el tabaquismo.

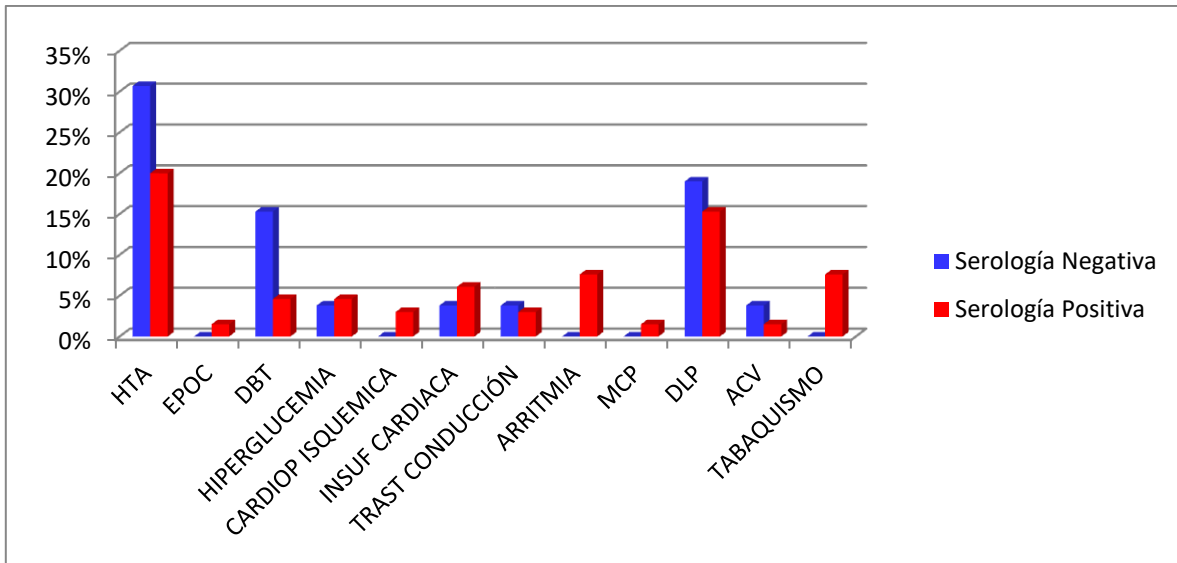


Figura 1: Antecedentes personales patológicos en pacientes menores de 60 años de acuerdo a la serología. HTA: Hipertensión arterial. EPOC: Enfermedad pulmonar obstructiva crónica. DBT: Diabetes MCP: Marcapasos. DLP: Dislipemia. ACV: Accidente cerebro vascular.

La Figura 2 muestra los síntomas y signos de los pacientes menores de 60 años. Se puede observar que los pacientes chagásicos presentaban más frecuentemente disnea y palpitaciones ($p < 0.05$).

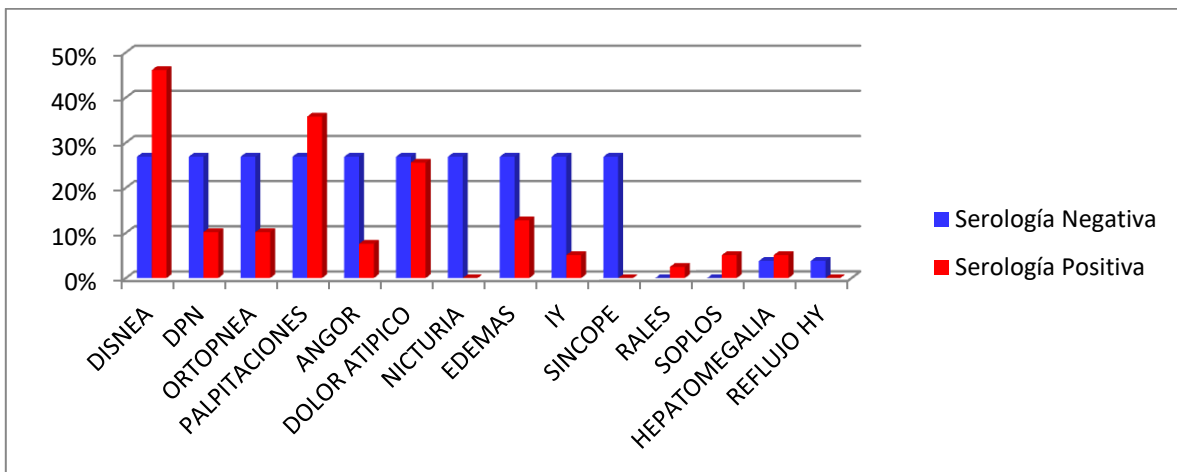


Figura 2: Síntomas y signos cardiovasculares y digestivos en pacientes menores de 60 años de acuerdo a la serología. DPN: Disnea paroxística nocturna. IY: Ingurgitación yugular. Reflujo HY: Reflujo hepatoyugular.

Los parámetros electrocardiográficos en ambos grupos se muestran en la Figura 3 donde se destaca que el grupo con serología positiva presentó con una frecuencia significativamente mayor trastornos de la repolarización ($p < 0.001$) mientras que, llamativamente, un número significativamente superior de pacientes con serología negativa mostraron trastornos de conducción intraventricular, bloqueo completo de rama derecha, bloqueo de rama izquierda, hemibloqueo anterior izquierdo y bloqueo aurículo ventricular.

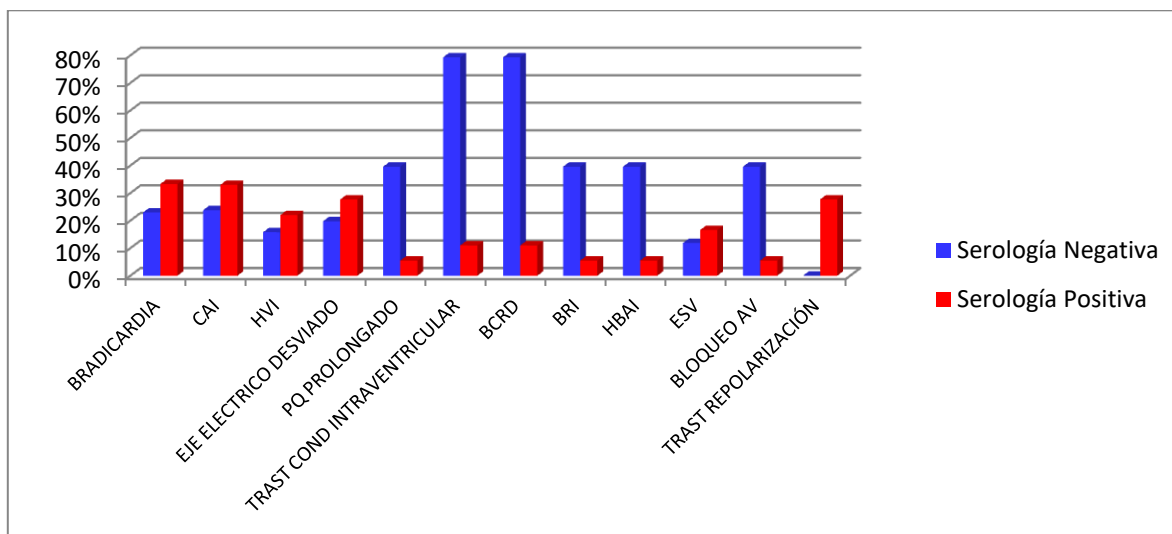


Figura 3: Parámetros electrocardiográficos en pacientes menores de 60 años de acuerdo a la serología. CAI: Crecimiento de aurícula izquierda. HVI: Hipertrofia de ventrículo izquierdo. Trast cond: Trastorno de conducción intraventricular. BCRD: Bloqueo completo de rama derecha. BRI: Bloqueo de rama izquierda. HBAI: hemibloqueo anterior izquierdo. ESV: extrasístole supraventricular. BLOQUEO AV: Bloqueo aurículo ventricular.

La figura 4 muestra las características ecocardiográficas encontradas en ambos grupos de pacientes en donde la disfunción diastólica, el remodelado concéntrico del ventrículo izquierdo y la dilatación de la aurícula izquierda fueron las anomalías más frecuentes en los pacientes chagásicos.

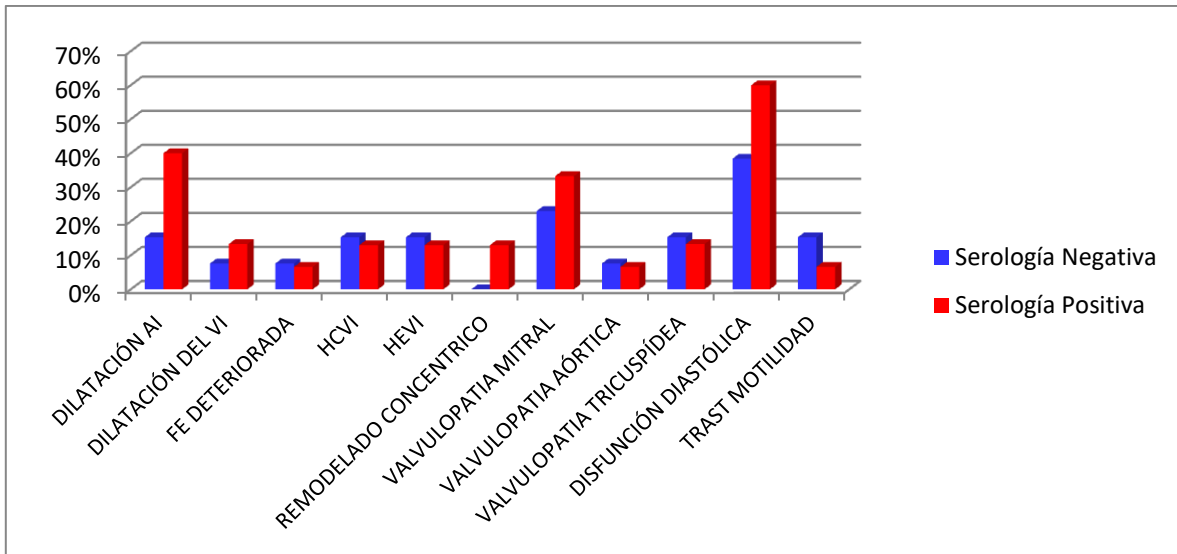


Figura 4: Parámetros ecocardiográficos en pacientes menores de 60 años de acuerdo a la serología. DILATACIÓN AI: dilatación de aurícula izquierda. Dilatación del VI: dilatación del ventrículo izquierdo. FE DETERIORADA: fracción de eyección deteriorada. HCVI: hipertrofia concéntrica del ventrículo izquierdo. HEVI: hipertrofia excéntrica del ventrículo izquierdo. Remodelado c: remodelado concéntrico del ventrículo izquierdo.

Pacientes mayores de 60 años (n: 124)

Las características clínicas, electrocardiográficas y ecocardiográficas que presentaron los pacientes mayores de 60 años se detallan a continuación.

La figura 5 muestra los antecedentes personales patológicos donde puede observarse que las arritmias y la insuficiencia cardíaca fueron más frecuentes en el grupo con serología positiva ($p < 0.05$), como era esperable, y la diabetes y la dislipemia en el grupo control ($p < 0.05$).

Por otro lado la hipertensión, la cardiopatía isquémica y los trastornos de conducción, como antecedentes relevantes, estuvieron presentes con frecuencias similares tanto en los pacientes con serología positiva como negativa.

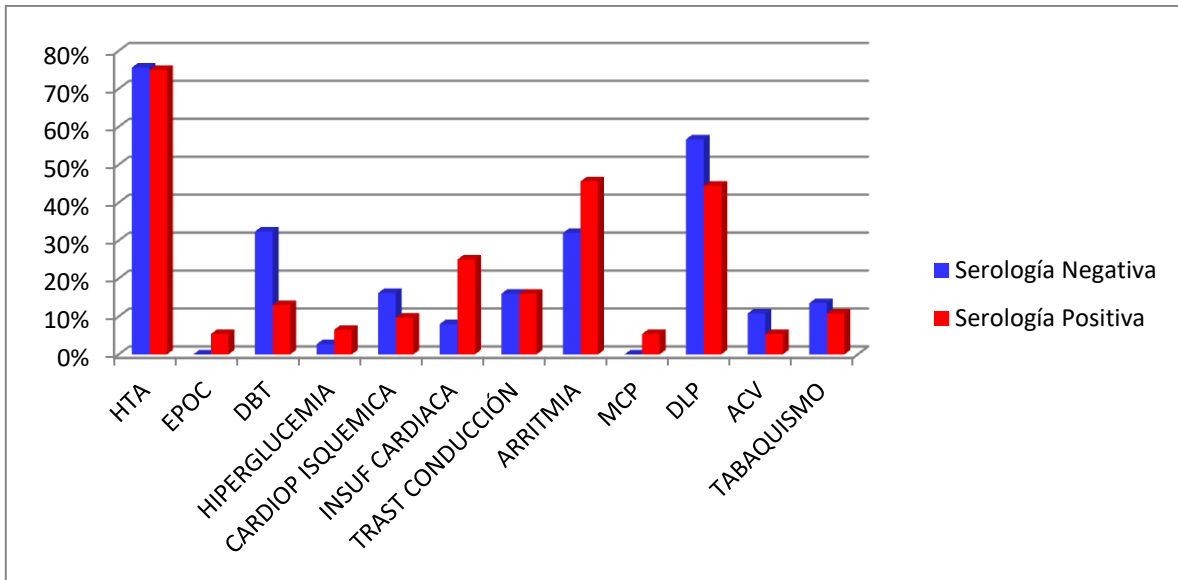


Figura 5: Antecedentes personales patológicos en pacientes mayores de 60 años de acuerdo a la serología. HTA: hipertensión arterial. EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica. DBT: diabetes. MCP: marcapasos. DLP: dislipemia. ACV: accidente cerebro vascular.

La Figura 6 muestra los síntomas y signos de los pacientes mayores a 60 años, evidenciándose que la disnea, las palpitaciones y los edemas fueron los parámetros a destacar en los pacientes chagásicos al compararlos con el grupo control ($p < 0.05$).

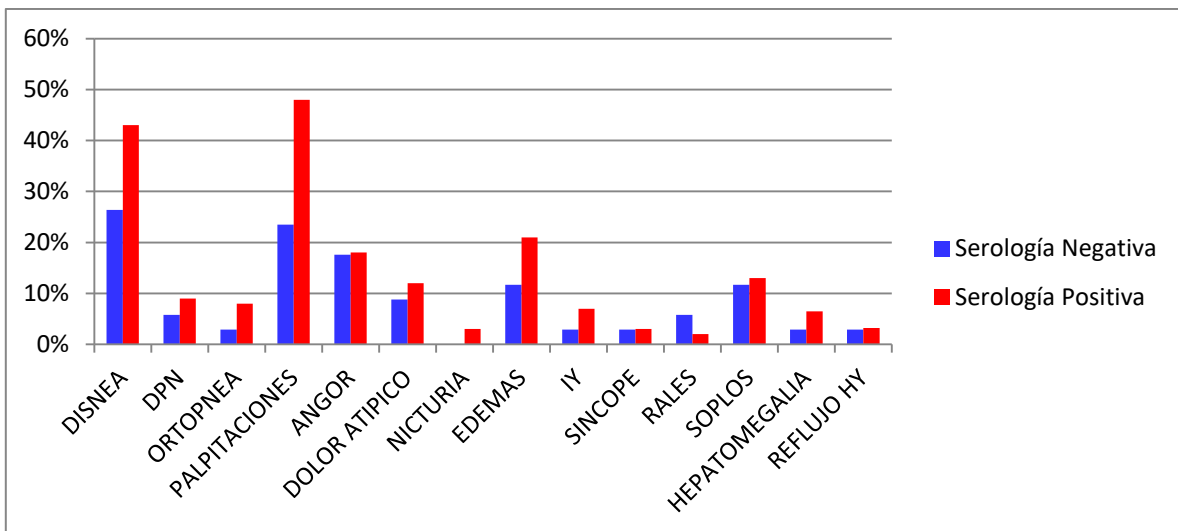


Figura 6: Síntomas y signos en pacientes mayores de 60 años de acuerdo a la serología. DPN: disnea paroxística nocturna. IY: ingurgitación yugular. Reflujo HY: reflujo hepato yugular.

Los parámetros electrocardiográficos en ambos grupos de pacientes y mayores de 60 años se muestran en la Figura 7.

Se destaca que el grupo con serología positiva presentó con una frecuencia significativamente mayor trastornos de la repolarización ventricular, bloqueo completo de rama derecha, hemibloqueo anterior izquierdo, extrasístoles ventriculares ($p < 0.05$), demostrando que el paso del tiempo agrava la cardiopatía de manera significativa (ver Figura 3 para comparar las edades y la evolución de los parámetros analizados).

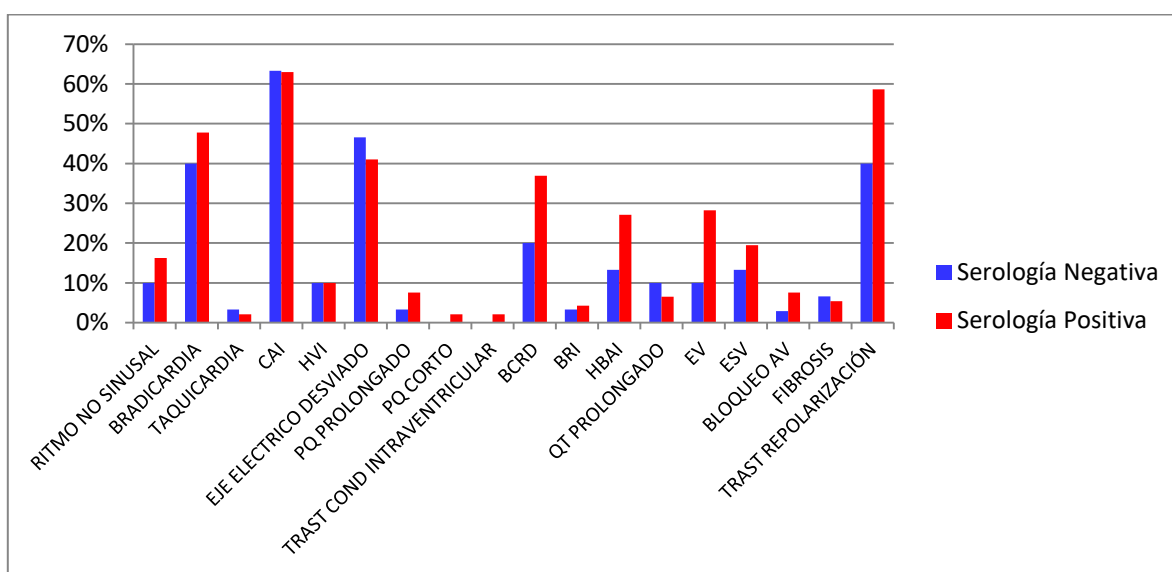


Figura 7: Parámetros electrocardiográficos en pacientes mayores de 60 años de acuerdo a la serología. CAI: Crecimiento de aurícula izquierda. HVI: Hipertrofia de ventrículo izquierdo. Trast cond: Trastorno de conducción intraventricular. BCRD: Bloqueo completo de rama derecha. BRI: Bloqueo de rama izquierda. HBAI: hemibloqueo anterior izquierdo. EV: extrasístole ventricular. ESV: extrasístole supraventricular. BLOQUEO AV: Bloqueo auriculo ventricular. TRAST: trastorno de repolarización ventricular.

La figura 8 muestra las características ecocardiográficas encontradas, en donde no se detectó predominio de anomalías en los pacientes chagásicos al compararlos con el grupo control.

Un porcentaje importante de ambos grupos presentó dilatación de aurícula izquierda, valvulopatías y disfunción diastólica con una fracción de eyección deteriorada del 10% en los pacientes control y del 15% en los chagásicos.

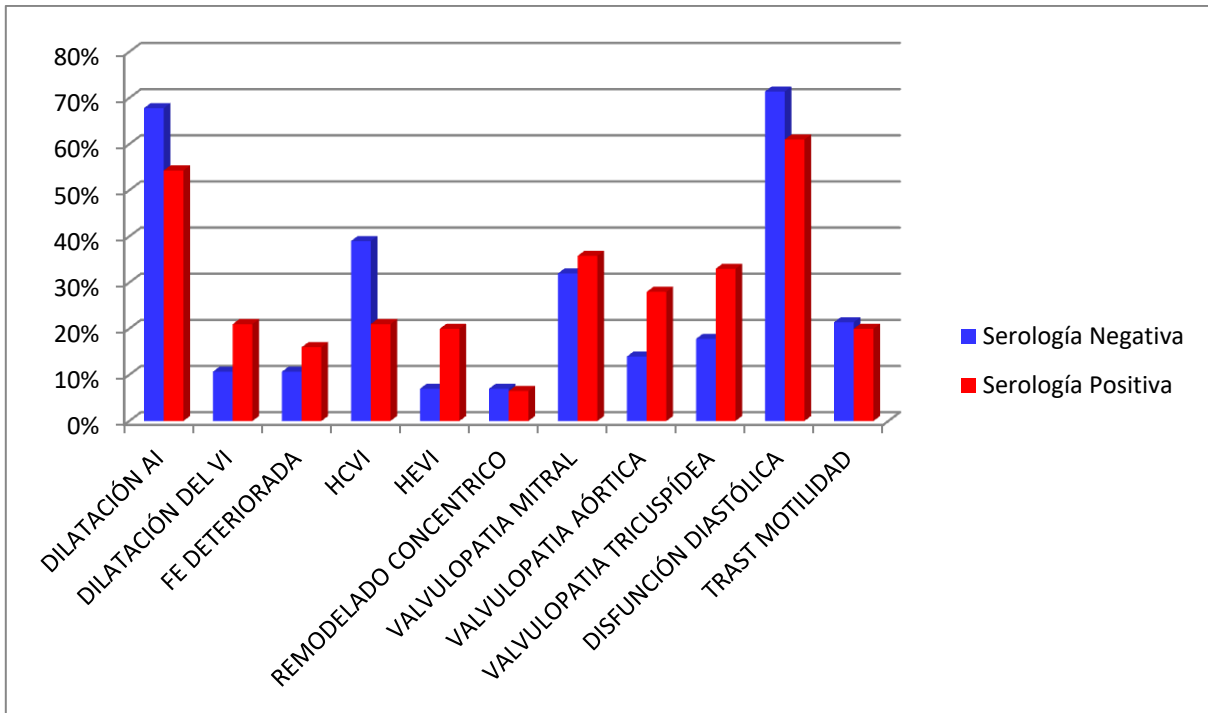


Figura 8: Parámetros ecocardiográficos en pacientes mayores de 60 años de acuerdo a la serología. DILATACIÓN AI: dilatación de aurícula izquierda. Dilatación del VI: dilatación del ventrículo izquierdo. FE DETERIORADA: fracción de eyección deteriorada. HCVI: hipertrofia concéntrica del ventrículo izquierdo. HEVI: hipertrofia excéntrica del ventrículo izquierdo. Remodelado c: remodelado concéntrico del ventrículo izquierdo.

Determinación de los polimorfismos A572D (rs36210423) y H558R (rs1805124) del gen SCN5A

Con el objetivo de correlacionar la evaluación clínico-cardiológica, la serología positiva o negativa para Enfermedad de Chagas y los polimorfismos A572D (rs36210423) y H558R (rs1805124) del gen SCN5A como factores predictores de susceptibilidad para desarrollar cardiopatía chagásica o para el agravamiento de la misma, se estudiaron un total de 95 pacientes, 70 seropositivos para antígenos de *T. cruzi* y 25 seronegativos, con una edad media de $62,4 \pm 11,7$ años.

La Tabla 1 resume las características clínicas de los pacientes de acuerdo a la siguiente clasificación:

G1(n = 24 (9 seronegativos y 15 seropositivos) sin alteraciones de ECG y / o Ecocardiograma.

G2 (n = 71 (16 seronegativos y 55 seropositivos) con alteraciones de ECG y o ecocardiográficas)

Tabla 1. Características clínicas de los pacientes sin alteraciones electrocardiográficas ni ecocardiográficas (G1) y (G2) con alteraciones electrocardiográficas y/o ecocardiográficas

Parámetro/ Característica	Serología positiva (n=70)			Serología negativa (n=25)		
	G1 (n=15)	G2 (n=55)	P	G1 (n=9)	G2 (n=16)	P
Edad (años±ES)	57.73 ± 3.12	64.76 ± 1.32	0.0397	48.89 ± 5.22	66.44 ± 2.47	0.0107
Femenino	73	71	>0.9999	78	69	0.6820
Masculino	27	29		22	31	
FEVI (%)	68.60 ± 1.64	59.15 ± 1.83	0.0058	63.94 ± 1.81	61.11 ± 3.85	0.8780
Hipertensión	47	67	0.1432*	33	81	0.0308
Diabetes	0	4	>0.9999	0	13	0.5200
DAI	0	76	<0.0001	0	75	0.0007
DVI	0	31	0.0321	0	19	0.2800
QTc (ms)	413.29 ± 9.5	447.69 ± 7.75	0.0499	400.67 ± 10.25	424.06 ± 14.19	0.2022
Cardiopatía Isquémica	0	7	0.5708	0	0	1.0000
Insuf cardíaca	0	35	0.0071	0	13	0.5200

FEVI: Fracción de eyección de ventrículo izquierdo. DAI: dilatación de aurícula izquierda. DVI: Dilatación de ventrículo izquierdo. QTc prolongado Insuf. Cardíaca: Insuficiencia cardíaca.

Los pacientes que presentaron serología negativa y positiva y una edad estadísticamente menor en G1 que los pacientes G2. En todos los grupos, la media de edad fue superior a 48 años.

Las alteraciones cardíacas más frecuentes en el grupo G2 con serología positiva fueron fracción de eyección de ventrículo izquierdo disminuída $p < 0.0058$; Dilatación del ventrículo izquierdo $p < 0.032$; QTc prolongado $p < 0.049$ e insuficiencia cardíaca $p < 0.0071$.

El agrandamiento de la aurícula izquierda (DAI) detectada a través de ecocardiografía fue el hallazgo más frecuente en los pacientes del G2, independiente de la serología, sin diferencia del antecedente de hipertensión arterial entre los grupos (ver Figuras 1 y 5).

Estudio del polimorfismo H558R de la subunidad alfa del canal de sodio voltaje dependiente (SCN5A)

De los 189 pacientes analizados a 95 se les estudió el polimorfismo H558R de la subunidad alfa del canal de sodio voltaje dependiente (SCN5A). Para evaluar la asociación entre la variante del gen SCN5A y el fenotipo de los pacientes infectados por el *T. cruzi*, se compararon las frecuencias alélicas y genotípicas de los individuos seronegativos y seropositivos mediante la prueba de la χ^2 y el análisis de regresión logística.

La distribución genotípica se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Distribución de la frecuencia genotípica del polimorfismo H558R de la subunidad alfa del canal de sodio voltaje dependiente (SCN5A) de acuerdo a la serología.

Polimorfismo H558R	Serología positiva n:70	Serología negativa n:25
Homocigota CC (n%)	25 (35,7%)	10 (40%)
Heterocigota TC (n%)	34 (48,5%)	12 (48%)
Homocigota TT (n%)	11 (15,8%)	3 (12%)

Al analizar los parámetros clínicos, electrocardiográficos y ecocardiográficos teniendo en cuenta los genotipos del polimorfismo H558R, tanto en pacientes con serología positiva como en el grupo control, se obtuvieron los siguientes resultados:

Pacientes con serología positiva

El genotipo heterocigota TC manifestó con mayor frecuencia asociación a síntomas y signos de insuficiencia cardíaca descompensada como puede observarse en la Figura 9, aunque no se pudo demostrar diferencias significativas cuando se lo comparó con los genotipos homocigotas (CC y TT) debido probablemente al n de los grupos.

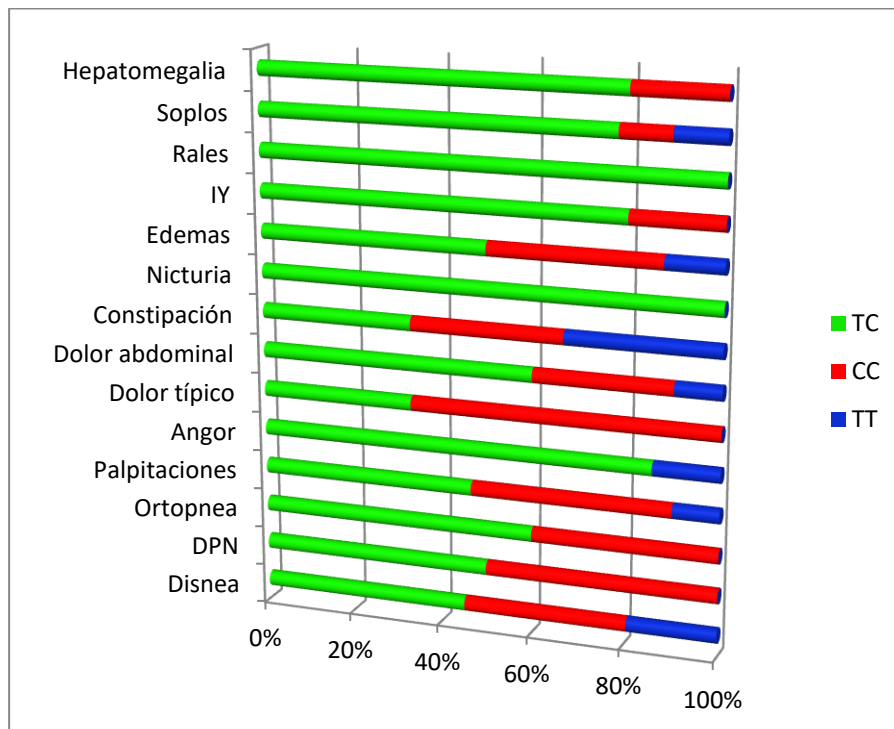


Figura 9: Síntomas y signos en pacientes con serología positiva de acuerdo al genotipo del polimorfismo H558R. IY: ingurgitación yugular. DPN: disnea paroxística nocturna.

En la figura 10 se representan los parámetros electrocardiográficos de acuerdo al genotipo, en donde se destaca la presencia de bloqueo de rama izquierda, el bloqueo de rama derecha, hemibloqueo anterior izquierdo y el trastorno de repolarización ventricular en los pacientes heterocigotas TC, sin encontrar diferencia significativa con los otros genotipos debido a la n de los grupos.

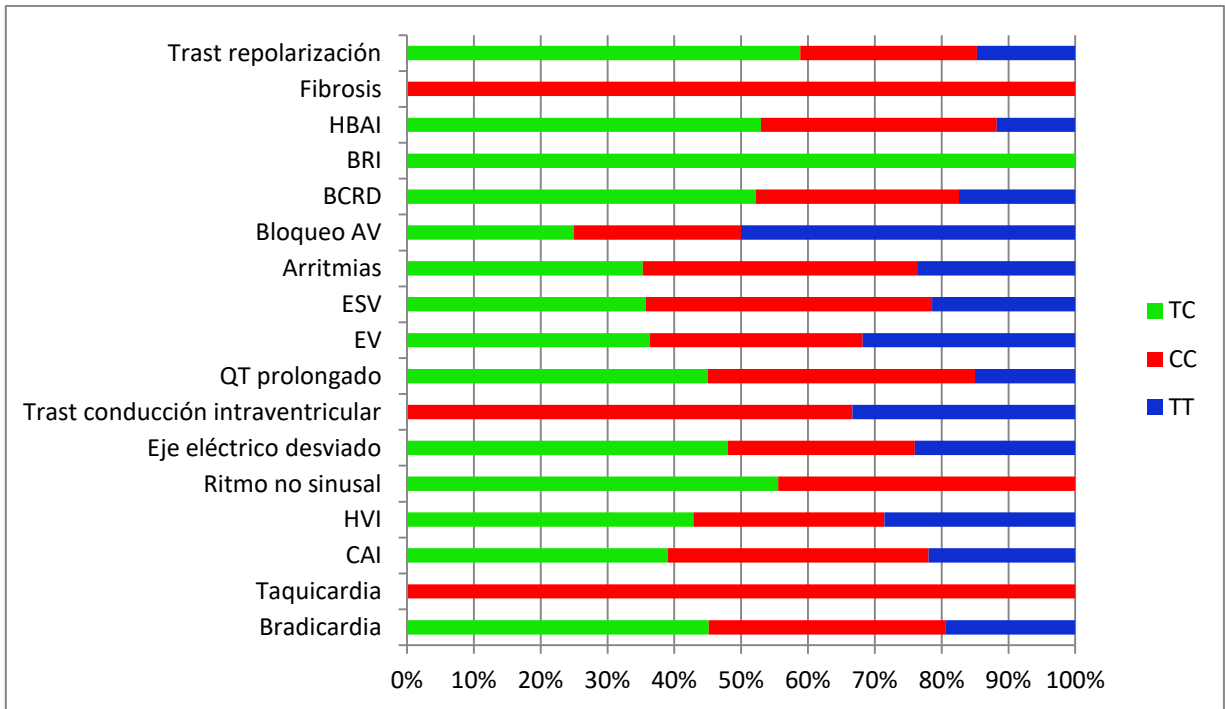


Figura 10: Trastornos electrocardiográficos en pacientes con serología positiva de acuerdo al genotipo del polimorfismo H558R. CAI: Crecimiento de aurícula izquierda. HVI: Hipertrofia de ventrículo izquierdo. Trast cond: Trastorno de conducción intraventricular. BCRD: Bloqueo completo de rama derecha. BRI: Bloqueo de rama izquierda. HBAI: hemibloqueo anterior izquierdo. EV: extrasístole ventricular. ESV: extrasístole supraventricular. BLOQUEO AV: Bloqueo auriculo ventricular. TRAST: trastorno de repolarización ventricular.

En la figura 11 se representan las alteraciones ecocardiográficas de acuerdo a los genotipos del polimorfismo H558R en pacientes con serología positiva. Se evidencia que el genotipo heterocigota presenta mayor frecuencia de dilatación de cavidades izquierdas e hipertrofia ventricular, sin diferencia significativa con los genotipos homocigotas.

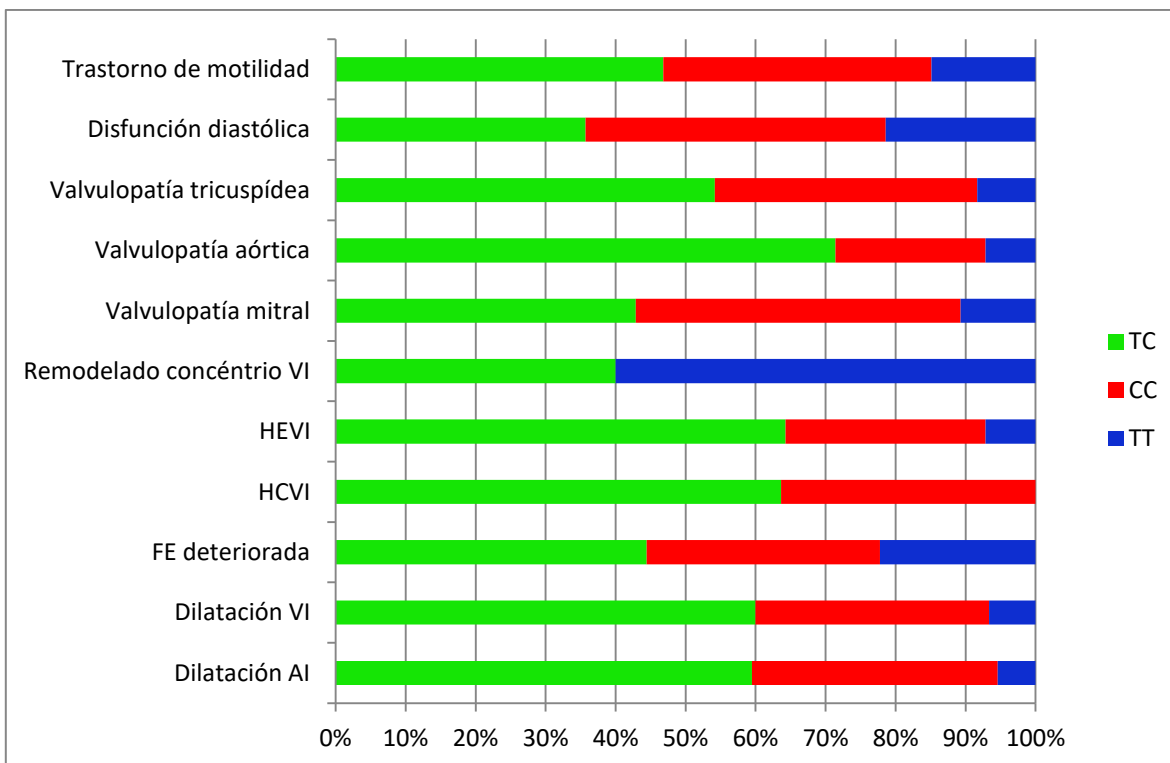


Figura 11: Trastornos ecocardiográficos en pacientes con serología positiva de acuerdo al genotipo del polimorfismo H558R. DILATACIÓN AI: dilatación de aurícula izquierda. Dilatación del VI: dilatación del ventrículo izquierdo. FE DETERIORADA: fracción de eyección deteriorada. HCVI: hipertrofia concéntrica del ventrículo izquierdo. HEVI: hipertrofia excéntrica del ventrículo izquierdo. Remodelado concéntrico VI: remodelado concéntrico del ventrículo izquierdo.

Pacientes con serología negativa

Los pacientes con serología negativa y genotipo homocigota CC presentaron mayor sintomatología digestiva, mientras que los heterocigotos angor y dolor precordial atípico (Figura 12).

El genotipo homocigota CC se asoció a bloqueo aurículo ventricular, QT prolongado, extrasístoles supraventriculares y taquicardia sinusal, mientras que el genotipo TC a extrasístoles ventriculares y bloqueo de rama derecha (figura 13), sin diferencia significativa entre los grupos.

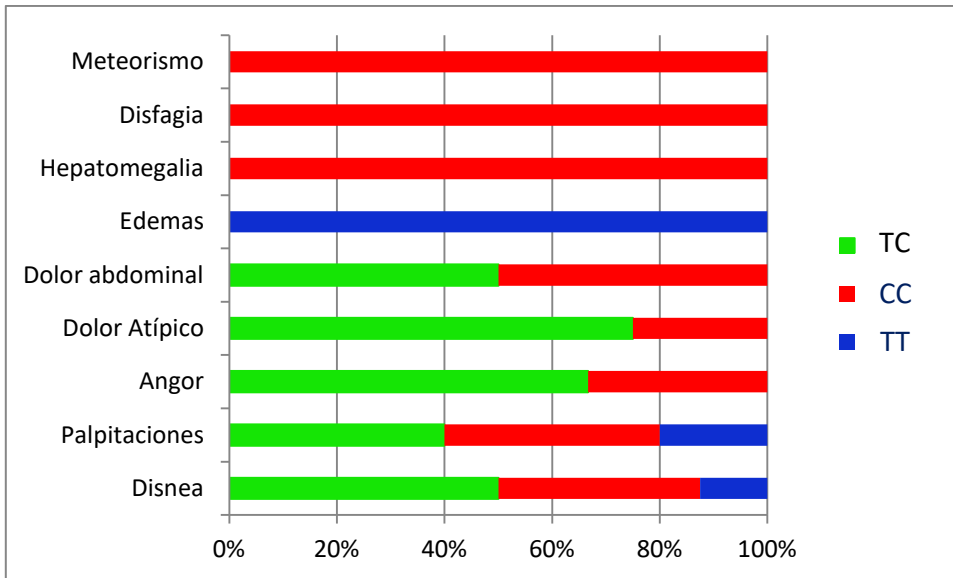


Figura 12: Síntomas y signos en pacientes con serología negativa de acuerdo al genotipo del polimorfismo H558R.

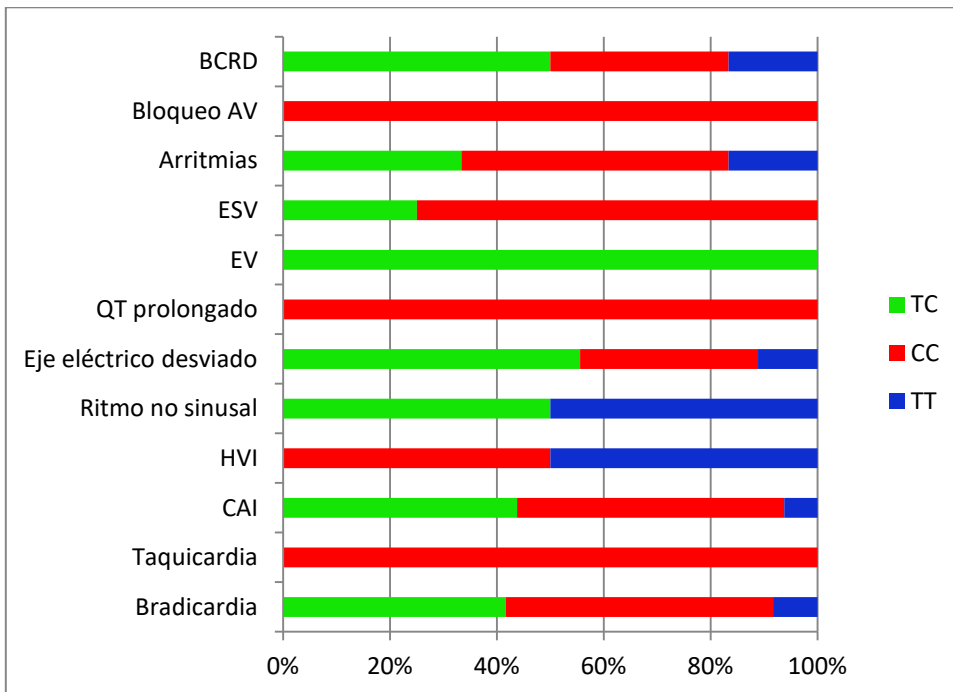


Figura 13: Alteraciones electrocardiográficas en los pacientes con serología negativa de acuerdo al genotipo. BCRD: bloqueo completo de rama derecha. Bloqueo AV: bloqueo aurículo ventricular. ESV: extrasístoles supraventriculares. EV: extrasístoles ventriculares. HVI: hipertrofia del ventrículo izquierdo. CAI: crecimiento de la aurícula izquierda.

Entre los trastornos ecocardiográficos se destacan la dilatación del ventrículo izquierdo, el deterioro de la función sistólica del ventrículo izquierdo, HEVI y el trastorno de la motilidad parietal entre los pacientes con el genotipo homocigota CC (figura 14).

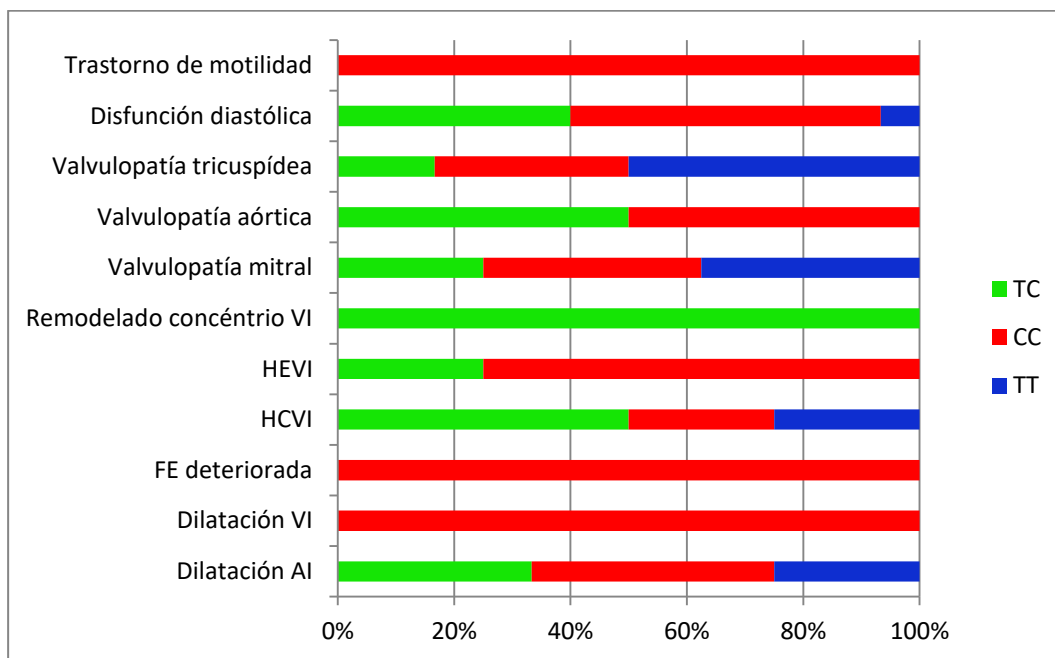


Figura 14: Parámetros ecocardiográficos en los pacientes con serología negativa de acuerdo al genotipo. HEVI: hipertrofia excéntrica del ventrículo izquierdo. HCVI: hipertrofia concéntrica del ventrículo izquierdo. FE DETERIORADA: fracción de eyección deteriorada. Dilatación VI: dilatación del ventrículo izquierdo. DILATACIÓN AI: dilatación de aurícula izquierda.

Analizamos entonces la presencia del alelo C (CC) versus el T (TC + TT) del polimorfismo H558r se asociaba a trastornos electrocardiográficos y ecocardiográfico en pacientes con serología positiva y negativa; los resultados se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Análisis de los alelos del polimorfismo H558r en relación a parámetros eléctricos y ecocardiográficos.

H558R vs	Serología Positiva			Serología Negativa		
	OR	IC 95 %	P	OR	IC 95 %	P
Parámetros electrocardiográficos						
Bradicardia						
CC vs CT + TT	0.62	0.23 – 1.64	0.3424	1.25	0.26 – 5.99	0.7896
Dilatación de la aurícula izquierda						
CC vs CT + TT	0.89	0.4 – 2	0.7783	4.0	1.01 – 15.85	0.051
Hipertrofia del ventrículo izquierdo						
CC vs CT + TT	0.8	0.22 – 2.97	0.7504	0.88	0.2 – 3.86	0.8668
Ritmo no sinusal						
CC vs CT + TT	1.75	0.55 - 5.54	0.3525	-	-	0.057
Eje eléctrico desviado						
CC vs CT + TT	0.47	0.21 – 1.07	0.0746	0.67	0.18 – 2.48	0.5641
QTc prolongado						
CC vs CT + TT	1.13	0.49 – 2.6	0.778	-	-	0.0449
PQ corto						
CC vs CT + TT	-	-	0.3197	-	-	0.7456
Extrasístole ventricular						
CC vs CT + TT	0.56	0.24 – 1.26	0.1641	-	-	0.1256
Extrasístole supraventricular						
CC vs CT + TT	0.63	0.27- 1.49	0.2999	7.29	1.08 – 49.05	0.0523
Arritmia						
CC vs CT + TT	0.71	0.31 – 1.64	0.4308	1.5	0.37 – 6.11	0.5867
Bloqueo aurículo ventricular						
CC vs CT + TT	0.38	0.08 - 1.8	0.2509	-	-	0.1681
Bloqueo de Rama derecha						
CC vs CT + TT	0.6	0.26 – 1.37	0.233	0.65	0.15 – 2.74	0.5734
Bloqueo de Rama izquierda						
CC vs CT + TT	-	-	0.1573	-	-	0.0449

Hemibloqueo anterior izquierdo						
CC vs CT + TT	0.92	0.38 – 2.25	0.8623	2.0	0.37 – 10.84	0.4531
Trastorno de repolarización ventricular						
CC vs CT + TT	0.39	0.18 – 0.87	0.0217	2.33	0.59 – 9.19	0.2391
Trastorno de conducción intraventricular						
CC vs CT + TT	0.37	0.17 – 0.85	0.0182	1.5	0.37 – 6.11	0.5867
Fibrosis						
CC vs CT + TT	-	-	0.0029	-	-	0.1681
Parámetros ecocardiográficos						
Dilatación de aurícula izquierda						
CC vs CT + TT	1.22	0.53 – 2.8	0.6448	1.0	0.28 – 3.59	0.999
Dilatación del ventrículo izquierdo						
CC vs CT + TT	1.08	0.41 – 2.81	0.878	-	-	0.0073
Fracción de eyección del ventrículo izquierdo deteriorada						
CC vs CT + TT	0.85	0.28 – 2.6	0.7879	-	-	0.0339
Hipertrofia concéntrica del ventrículo izquierdo						
CC vs CT + TT	1.41	0.48 – 4.16	0.5416	0.44	0.08 – 2.39	0.3711
Hipertrofia excéntrica del ventrículo izquierdo						
CC vs CT + TT	0.81	0.3 – 2.21	0.6907	4.0	0.78 – 20.48	0.1088
Disfunción diastólica						
CC vs CT + TT	2.17	0.76 – 6.14	0.1519	10.0	2.0 – 49.95	0.0047
Trastorno de la motilidad parietal						
CC vs CT + TT	0.81	0.3 – 2.21	0.6907	-	-	0.0073

Cabe destacar que luego de haber de haber analizado estadísticamente si el alelo C o T para éste polimorfismo confería mayor riesgo para desarrollar cardiopatía chagásica, pudimos

demostrar que los portadores del alelo C con serología positiva presentaron significativamente más trastornos de conducción intraventricular (OR: 0.37 IC95% 0.17 - 0.85 p:0.0182) y trastorno de repolarización ventricular (OR:0.39 IC95% 0.18 – 0.87 p: 0.0217) , mientras que los los pacientes seronegativos evidenciaron disfunción diastólica (OR:10 IC 95% 2 – 49.95 p: 0.0047).

Estudio del polimorfismo A572D de la subunidad alfa del canal de sodio voltaje dependiente (SCN5A)

De los 189 pacientes analizados a 90 se les estudió el polimorfismo A572D de la subunidad alfa del canal de sodio voltaje dependiente (SCN5A), cuya distribución se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4. Distribución de la frecuencia genotípica del polimorfismo A572D de la subunidad alfa del canal de sodio voltaje dependiente (SCN5A) de acuerdo a la serología.

Polimorfismo A572D	Serología positiva n:67	Serología negativa n:23
Homocigota AA (n%)	38 (56,7%)	13 (56,5%)
Heterocigota AD (n%)	24 (35,8%)	7 (30,4%)
Homocigota DD (n%)	5 (7,5%)	3 (13,1%)

El genotipo más frecuente del polimorfismo A572D fue el homocigota AA.

El análisis de los parámetros clínicos, eléctricos y ecocardiográficos teniendo en cuenta el genotipo del polimorfismo A572D evidenció los siguientes resultados:

Pacientes con serología positiva

En los pacientes con serología positiva el genotipo AA no presentó diferencia significativa en cuanto a los síntomas y signos clínicos con respecto a los genotipos AD y DD (Figura 15).

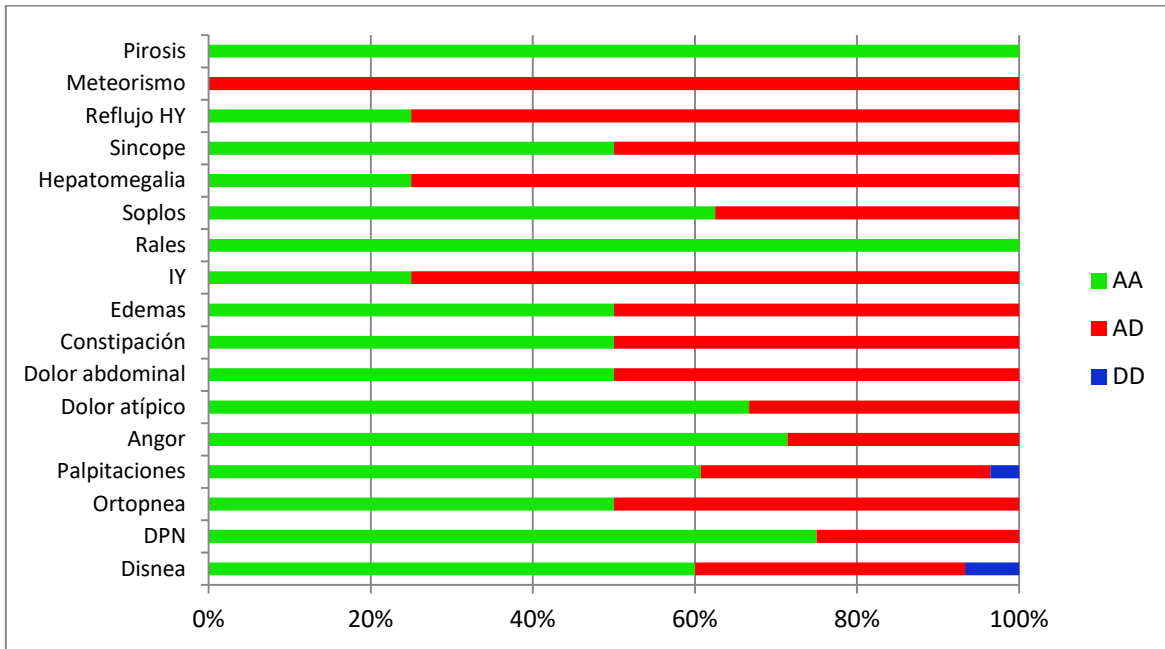


Figura 15: Síntomas y signos en pacientes con serología positiva de acuerdo al genotipo del polimorfismo A572D. REFLUJO HY: reflujo hepato yugular. IY: ingurgitación yugular. DPN: disnea paroxística nocturna.

Las alteraciones electrocardiográficas en pacientes con serología positiva se representan en la figura 16. El genotipo homocigota AA presenta mayor frecuencia de alteraciones eléctricas comparado con los otros genotipos, con la excepción de los trastornos de conducción intraventricular que fueron más frecuentes en los heterocigotos.

Los hallazgos ecocardiográficos se exponen en la figura 17 en donde se evidencia que no existe diferencia significativa entre los genotipos.

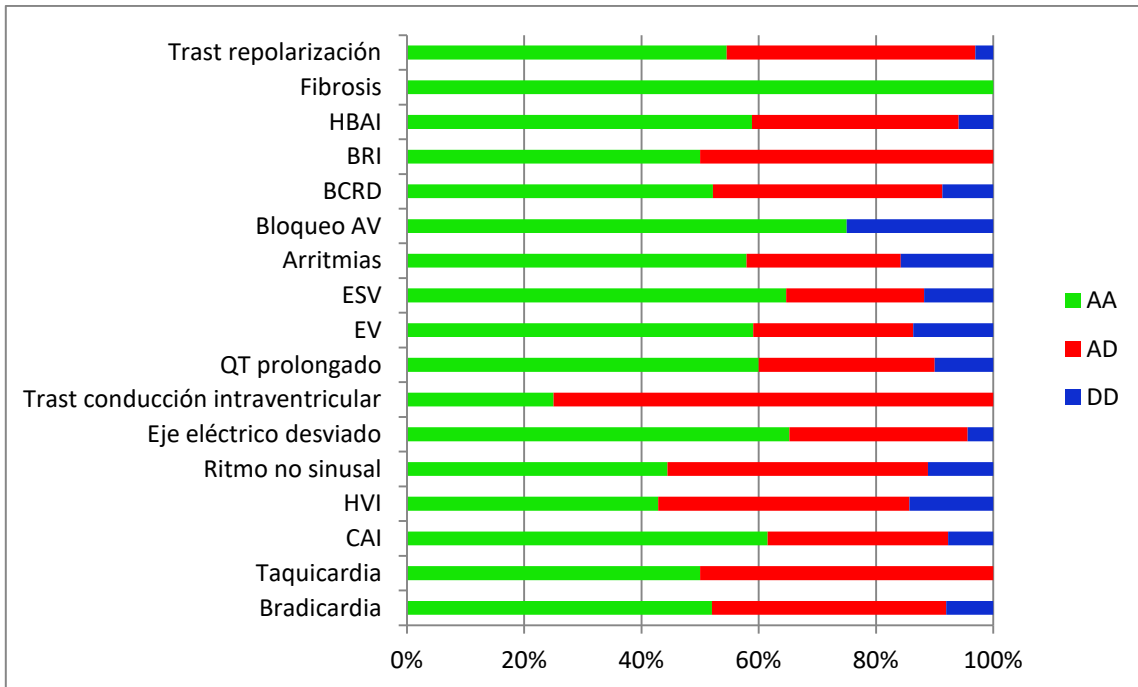


Figura16: Alteraciones electrocardiográficas en los pacientes con serología positiva de acuerdo al genotipo. HBAI: hemibloqueo anterior izquierdo. BCRD: bloqueo completo de rama derecha. EV: extrasístoles ventriculares. CAI: crecimiento de aurícula izquierda.

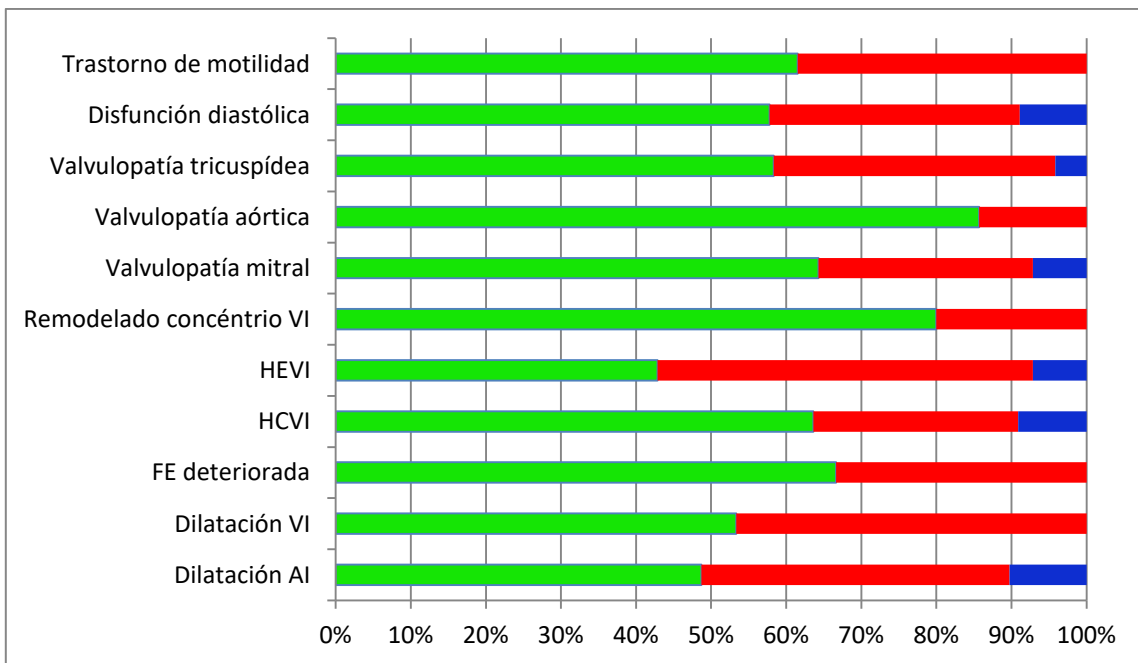


Figura 17: Parámetros ecocardiográficos en los pacientes con serología positiva de acuerdo al genotipo. HEVI: hipertrofia excéntrica del ventrículo izquierdo. HCVI: hipertrofia concéntrica del ventrículo izquierdo. FE DETERIORADA: fracción de eyección deteriorada. Dilatación del VI: dilatación del ventrículo izquierdo. DILATACIÓN AI: dilatación de aurícula izquierda. Homocigotas AA en verde, DD en azul y AD en rojo.

Evaluación de los pacientes con serología negativa de acuerdo a los genotipos del polimorfismo A572D.

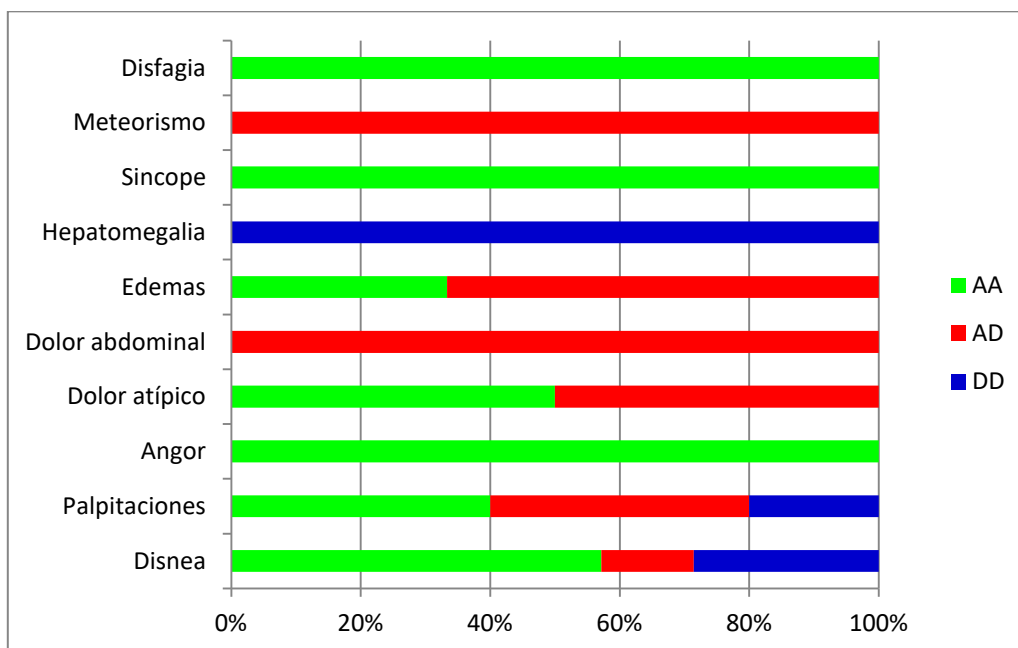


Figura 18: Síntomas y signos en pacientes con serología negativa de acuerdo al genotipo del polimorfismo A572D.

Los pacientes con serología negativa y genotipo homocigota AA presentaron con mayor frecuencia que los demás genotipos síncope, disnea y angor.

Las alteraciones electrocardiográficas se representan en la figura 19, en donde se destacan los trastornos de conducción tales como el bloqueo aurículo ventricular, el bloqueo de rama izquierda, bloqueo de rama derecha, el hemibloqueo anterior izquierdo, el intervalo QT prolongado e hipertrofia ventricular entre los portadores del genotipo homocigota AA.

En relación a los parámetros ecocardiográficos, los portadores del genotipo AA evidenciaron mayores trastornos estructurales del miocardio como la dilatación de cavidades izquierdas, hipertrofia ventricular, deterioro de la función sistólica y diastólica (figura 20).

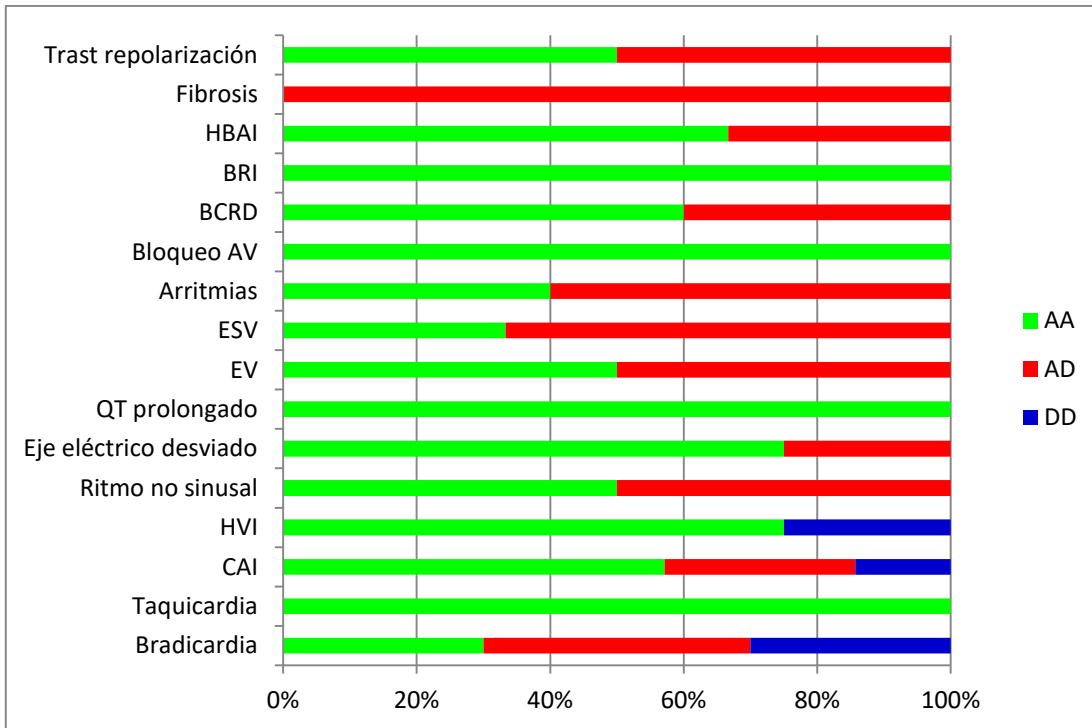


Figura 19: Alteraciones electrocardiográficas en los pacientes con serología negativa de acuerdo al genotipo. HBAI: hemibloqueo anterior izquierdo. BCRD: bloqueo completo de rama derecha. EV: extrasístoles ventriculares. CAI: crecimiento de aurícula izquierda.

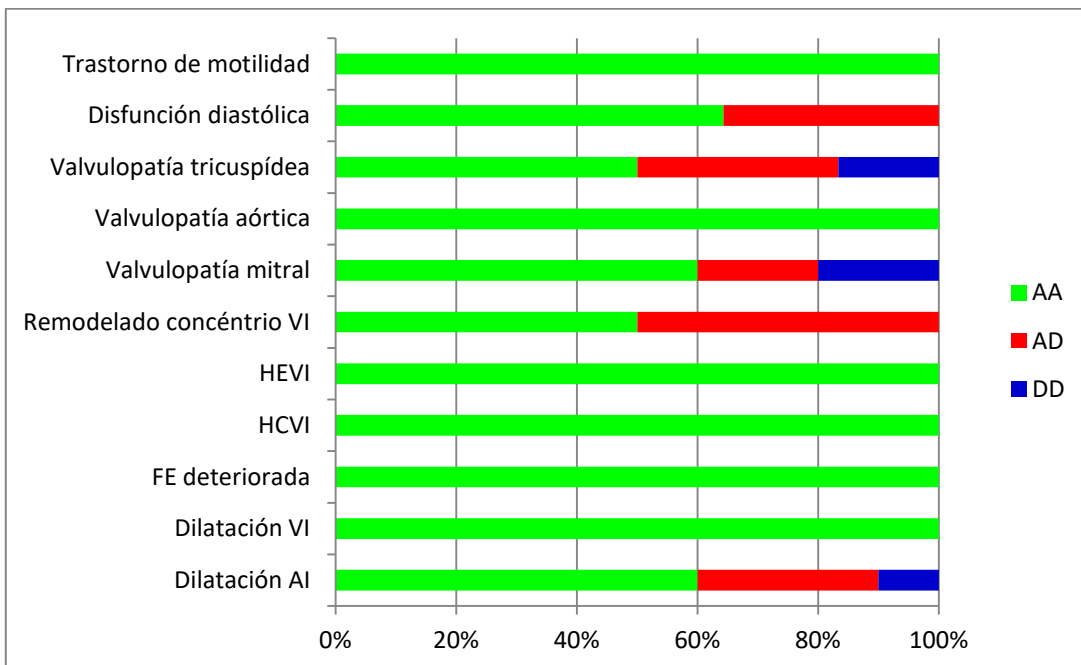


Figura 20: Parámetros ecocardiográficos en los pacientes con serología negativa de acuerdo al genotipo. HEVI: hipertrofia excéntrica del ventrículo izquierdo. HCVI: hipertrofia concéntrica del ventrículo izquierdo. FE DETERIORADA: fracción de eyección deteriorada. Dilatación del VI: dilatación del ventrículo izquierdo. DILATACIÓN AI: dilatación de aurícula izquierda.

En conclusión, las frecuencias alélicas y genotípicas para SCN5A A572D no fueron estadísticamente diferentes cuando se compararon los pacientes seropositivos G1 frente a G2 y no se encontró asociación entre este SNP y las características clínicas.

Analizamos entonces el alelo A versus D del polimorfismo A572D de acuerdo a parámetros eléctricos y ecocardiográficos cuyos resultados se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5. Análisis del alelo A versus el D del polimorfismo A572D de acuerdo a parámetros eléctricos y ecocardiográficos

A572D	Serología Positiva			Serología Negativa		
	OR	IC 95 %	P	OR	IC 95 %	P
Parámetros electrocardiográficos						
Bradicardia						
AA vs AD + DD	0.87	0.34 – 2.23	0.7713	0.35	0.09 – 1.38	0.141
Dilatación de la aurícula izquierda						
AA vs AD + DD	1.52	0.68 – 3.42	0.3121	1.0	0.27 – 3.75	0.999
Hipertrofia del ventrículo izquierdo						
AA vs AD + DD	0.5	0.15 – 1.67	0.2712	1.65	0.32 – 8.4	0.5749
Ritmo no sinusal						
AA vs AD + DD	0.55	0.18 – 1.67	0.3004	1.0	0.12 – 8.46	0.999
Eje eléctrico desviado						
AA vs AD + DD	0.99	0.4 – 2.44	0.9864	4.71	0.99 – 22.5	0.059
QTc prolongado						
AA vs AD + DD	1.02	0.42 – 2.44	0.9732	-	-	0.1355
PQ corto						
AA vs AD + DD	-	-	0.3332	-	-	0.04
Extrasístole ventricular						
AA vs AD + DD	0.66	0.28 – 1.52	0.3338	1.0	0.12 – 8.46	0.999
Extrasístole supraventricular						
AA vs AD + DD	1.32	0.53 - 3.31	0.5554	0.46	0.07 – 3.03	0.4554
Arritmia						
AA vs AD + DD	0.85	0.36 – 2.01	0.7187	0.61	0.13 – 2.93	0.5551

Bloqueo aurículo ventricular							
AA vs AD + DD	1.37	0.3 - 6.25	0.7072	-	-	0.3046	
Bloqueo de Rama derecha							
AA vs AD + DD	0.75	0.32 - 1.71	0.4947	1.65	0.32 - 8.4	0.5749	
Bloqueo de Rama izquierda							
AA vs AD + DD	0.89	0.11 - 7.03	0.9266	-	-	0.1355	
Hemibloqueo anterior izquierdo							
AA vs AD + DD	1.07	0.42 - 2.71	0.8867	2.18	0.3 - 15.69	0.4982	
Trastorno de repolarización ventricular							
AA vs AD + DD	1.01	0.45 - 2.25	0.976	1.0	0.22 - 4.47	0.999	
Trastorno de conducción intraventricular							
AA vs AD + DD	0.43	0.07 - 2.62	0.4	-	-	0.0374	
Fibrosis							
AA vs AD + DD	-	-	0.092	-	-	0.1519	
Parámetros ecocardiográficos							
Dilatación de aurícula izquierda							
AA vs AD + DD	1.86	0.8 - 4.32	0.1501	1.03	0.26 - 4.03	0.9689	
Dilatación del ventrículo izquierdo							
AA vs AD + DD	-	-	0.0037	-	-	0.0817	
Fracción de eyección del ventrículo izquierdo deteriorada							
AA vs AD + DD	-	-	0.0141	-	-	0.1684	
Hipertrofia concéntrica del ventrículo izquierdo							
AA vs AD + DD	2.33	0.67 - 8.13	0.2	-	-	0.0817	
Hipertrofia excéntrica del ventrículo izquierdo							
AA vs AD + DD	1.93	0.55 - 6.85	0.3286	-	-	0.0817	
Disfunción diastólica							
AA vs AD + DD	1.19	0.51 - 2.77	0.6894	2.7	0.67 - 10.91	0.1729	

**Trastorno de la motilidad
parietal**

AA vs AD + DD	-	-	0.0925	-	-	0.0817
---------------	---	---	--------	---	---	--------

Cabe destacar que luego de haber de haber analizado estadísticamente si la presencia del alelo A o D para este polimorfismo confería mayor riesgo para desarrollar cardiopatía chagásica, no pudimos demostrar esta asociación con ninguno de los múltiples parámetros analizados.

Cuando investigamos si existía relación entre los genotipos de ambos polimorfismos, pudimos objetivar una asociación entre el genotipo TC (H558R) y AA (A572D) para la mayoría de los parámetros estudiados.

Al estudiar pacientes con Enfermedad de Chagas exclusivamente, sin comorbilidades obtuvimos un grupo de 12 pacientes, de los cuales la mitad eran heterocigotas para ambos polimorfismos.

Determinación de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) en una sola toma de sangre en los pacientes a los cuales se les determinó los polimorfismos (n: 50)

Los resultados de la determinación de la presencia de ADN de *T. cruzi* en sangre de los pacientes en una sola toma se muestran en la Tabla 6 habiéndose correlacionado con las diferentes manifestaciones que ellos presentaban.

Tabla 6. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) determinada en pacientes con serología positiva y su correlación con trastornos eléctricos y alteraciones ecocardiográficas (daño estructural). Expresados en valor absoluto (n) y el porcentaje del número total (%).

	PCR POSITIVA	PCR NEGATIVA	P
	SI n(%) 44	SI n (%): 32	
BRADICARDIA	14(31,8%)	27(84,3%)	0.0001
EV	10(22,7%)	9(28,1%)	0.5916
ESV	6(13,6%)	7(21,8%)	0.3463
BRD	6(13,6%)	12(37,5%)	0.015
HBAI	5(11,3%)	8(25%)	0.1037
FIBROSIS	2(4,5%)	2(6,25%)	0.7175
ARRITMIA	9(20,4%)	17(53,1%)	0.03
FE DETERIORADA	4(9,09%)	6(18,7%)	0.3927
DILATACIÓN DEL VI	4(9,09%)	7(21,8%)	0.2417
DISFUNCIÓN DIASTÓLICA	18(40,9%)	21(65,6%)	0.3139
DILATACIÓN AURICULAR IZQ POR ECOCARDIOGRAMA	14(31,8%)	16(50%)	0.3866

DPN: disnea paroxística nocturna. IY: ingurgitación yugular. EV: extrasístoles ventriculares.ESV: extrasístoles supra ventriculares. BRD: bloqueo rama derecha. HBAI: hemibloqueo anterior izquierdo. FE DETERIORADA: fracción de eyección deteriorada.AI: aurícula izquierda.

Es de destacar que se obtuvieron diferencias significativas en parámetros como bradicardia, bloqueo de rama derecha y arritmia, pero sorprendentemente fueron más frecuentes en los pacientes con PCR negativa.

Discusión

La enfermedad de Chagas continúa siendo endémica en América Latina. La Argentina comparte una de las zonas de mayor prevalencia de infectados conjuntamente con la región que involucra Bolivia, Paraguay y el Gran Chaco (Mitelman y col 2011; Samuel y col 2013; OMS 2015).

La principal afección es la miocardiopatía chagásica, que se desarrolla en el 20 al 30% de los individuos infectados, manifestándose con una amplia variabilidad clínica: bloqueos de rama y aurículo-ventriculares, taquiarritmias, bradiarritmias, insuficiencia cardíaca, accidente cerebrovascular isquémico embólico, etc (Kierszenbaum 2007; Rassi y col 2009 Rassi y col 2012). Se estima que la enfermedad provocaría entre 45.000 y 50.000 muertes anuales, de las cuales el 60% ocurre en forma súbita (Beloscar y col 2013), seguida de insuficiencia cardíaca refractaria y fenómenos tromboembólicos (Rassi y col 2001, OMS 2019).

Existe una amplia gama de manifestaciones y variabilidad en relación a la evolución y pronóstico. Desde formas asintomáticas, trastornos electrocardiográficos leves, hasta el síndrome de insuficiencia cardíaca, arritmias severas y muerte súbita.

Su etiología es sin lugar a dudas multifactorial interviniendo factores del agente etiológico, del huésped y del medio ambiente.

Resulta importante investigar los elementos asociados al desarrollo de la cardiopatía, para poder detectarla precozmente, incluso previo a la aparición de sintomatología. Se cuenta con un tiempo largo, de entre 10 a 30 años, desde la infección hasta la aparición de los primeros síntomas (etapa crónica sin patología) por ello con la finalidad de implementar y evaluar estrategias preventivas, de realizar un tratamiento, seguimiento oportuno y establecer un perfil de riesgo resulta indispensable encontrar factores que puedan colaborar en este sentido.

Las mujeres de edad fértil, constituyen un grupo especial a tener en cuenta ya que el Chagas congénito es la forma de mayor prevalencia en la zona, debido a la posibilidad de

transmitir la infección por vía transplacentaria, y también para evitar la progresión de las lesiones cardíacas en esas madres, lo cual generaría un impacto positivo en la sobrevivencia, mejorando la calidad de vida de los pacientes y la realidad socioeconómica de nuestro país ya que esta patología afecta principalmente personas jóvenes en edad productiva.

La insuficiencia cardíaca congestiva, que se presenta en estadios avanzados de la enfermedad y que representa una causa importante de internaciones y complicaciones, constituye una creciente preocupación en América Latina. Su principal etiología es la arteriopatía coronaria; el incremento de la edad de la población, la creciente prevalencia de factores de riesgo cardiovasculares como la hipertensión arterial, la diabetes, la obesidad, el tabaquismo, el estrés, resultan preocupantes, sumado al subdiagnóstico de miocarditis infecciosas como la enfermedad de Chagas, ya que se ha evidenciado que ésta etiología presenta un pronóstico desfavorable con respecto a otras causas (Cubillos-Garzón y col 2004, Consenso Enf. De Chagas 2011).

El estudio de polimorfismos y mutaciones de genes que codifican proteínas que constituyen canales iónicos en células excitables como las cardíacas, aportó una herramienta fundamental en el diagnóstico y estratificación del riesgo para aquellas enfermedades que hasta el momento se consideraban idiopáticas, pero que representan una elevada causa de muerte súbita en personas aparentemente sanas en edad productiva. Dado el rol esencial de estos canales en la electrofisiología cardíaca, los mismos han sido estudiados en diversas patologías (Shah y col 2011).

Hay suficiente evidencia que éstas alteraciones en los genes, tienen traducción en modificaciones electrocardiográficas específicas, las cuales constituyen una herramienta para el diagnóstico. Dado que en la enfermedad de Chagas se presentan trastornos electrocardiográficos de manera más frecuente que en otras etiologías, éstas podrían tener origen en alteraciones de los canales, especialmente en la subunidad alfa del canal de sodio (SCN5A), ya que se ha demostrado que la función de los canales se ve precozmente deteriorada en la enfermedad, como también podría tener origen en una predisposición individual que explique por qué el 30% de los infectados desarrolla cardiopatía y el 70% permanece asintomático (Olesen y col 2012, OMS 2019).

Variantes genéticas de proteínas participantes de la transmisión del impulso eléctrico en el corazón se asocian con alteraciones eléctricas específicas, arritmias e hipertrofia ventricular izquierda (Conte y col 2019; Yang y col 2019).

También en modelos experimentales se ha puesto de manifiesto que la infección puede modificar la función del canal iónico, con acortamiento en el potencial de acción, elevación de la concentración de Ca^{++} en reposo y la alteración en la respuesta a los agonistas alfa adrenérgicos, que se manifiesta por trastornos de la conducción característicos de la enfermedad (de Carvalho y col 1994; Dong y col 2019).

Las alteraciones genéticas en el gen SCN5A pueden afectar la estructura, la función y la expresión del canal de sodio Nav1.5 a través de diversos mecanismos. Se reconocen más de 450 mutaciones en éste gen, vinculadas a canalopatías primarias del sodio (ClinVar).

Se ha documentado por ejemplo, la presencia de una mutación aislada (sustitución de la cisteína 514 por glicina (G514C) en SCN5A en miembros de una familia, con una activación dependiente de voltaje alterada, que se manifiesta clínicamente con una desaceleración del ritmo cardíaco que parcialmente puede ser corregida con el uso de corticoides. A diferencia de otras mutaciones identificadas, en éste caso no se ve asociada a la aparición de arritmias y con el tratamiento puede mejorar sustancialmente (Bink-Boelkens y col 2001; Veerman y col 2015; Tarradas y col 2017).

Con el objetivo de identificar una posible asociación entre presencia de polimorfismos de genes que codifican proteínas canales de Na^{+} dependientes de voltaje, como el SCN5A (subunidad α de canal de sodio voltaje dependiente tipo V), con parámetros electrocardiográficos, estructurales y clínicos para establecer un perfil genético de riesgo, en el presente trabajo se estudió una muestra de 189 pacientes, 129 (68,2%) con serología positiva para Chagas y 60 (31,8%) con serología negativa. La mayoría eran seropositivos debido a que eran derivados para su valoración ante la sospecha epidemiológica, proviniendo la mayor parte de zonas endémicas.

La edad media del primer grupo fue de $62,6 \pm 13,78$, siendo del género femenino un 65% (n: 84) y del masculino un 35% (n: 45), de gran importancia en la valoración, ya que como se ha descrito, la cardiopatía chagásica fue más frecuente en mujeres de menor edad y

menos co- morbilidades con respecto a otras etiologías de miocardiopatías, por otro lado presentaban peor evolución y pronóstico (Lassen y col 2013).

La edad media del grupo con serología negativa fue de $57,53 \pm 17,8$, con un 66,6% de individuos del género femenino (n: 40) y un 33,4% del masculino (n: 20). No se evidenció diferencia significativa en cuanto a las edades de ambos grupos.

Dada la edad media de ambos grupos y la presencia de comorbilidades asociadas en la aparición y agravamiento de la cardiopatía, los individuos fueron subdivididos en menores y mayores de 60 años.

Se evaluaron antecedentes personales patológicos, parámetros clínicos, electrocardiográficos y ecocardiográficos.

Entre los pacientes menores de 60 años no se evidenció diferencia en cuanto a los antecedentes patológicos independiente a la serología. Mientras que la sintomatología predominó entre los individuos seropositivos como es de esperar y se destacó la presencia de disnea y palpitaciones.

El electrocardiograma puso en evidencia que los trastornos de repolarización ventricular en los pacientes seropositivos fue significativamente superior que en el grupo control, dato que ha sido objetivado en diversos estudios, en donde se presentó con elevada frecuencia (Ribeiro y col 2014) y se estima que tiene una prevalencia entre el 0,2 % y el 40% (Barretto y col 1989). También se describe que estos trastornos tienden a ocurrir durante etapas tempranas de la enfermedad (Porto y col 1964), antes de la aparición de otras anomalías, aunque no se relacionan con un peor pronóstico (Porto y col 1964; Dias y col 1968).

Prata y col (1993) han considerado que el trastorno de repolarización ventricular es una anomalía inespecífica, ya que podría ser una consecuencia de miocarditis difusa, disfunción autonómica, o incluso malnutrición.

Algunos resultados del presente trabajo resultaron sorprendentes ya que no era lo esperado: los pacientes del grupo con serología negativa, menores de 60 años mostraron trastornos de conducción, bloqueo completo de rama derecha, bloqueo de rama izquierda, hemibloqueo

anterior izquierdo y bloqueo aurículo ventricular de manera superior al grupo de seropositivos.

La presencia de alteraciones aisladas del ECG, se encuentran tanto en pacientes como en personas sanas; se describen anomalías como: bradicardia sinusal, bloqueo auriculoventricular de primer grado, alteraciones de repolarización ventricular no específica (RV), desviación del eje del QRS de 0 grados a -30 grados, extrasístole supraventricular aislada y extrasístole ventricular prematura, bloqueo incompleto de la rama derecha y hemibloqueo anterior izquierdo.

Es por ello que éstos resultados deben ser evaluados en el contexto de las patologías asociadas que tenían nuestros pacientes y que podrían superponerse a los hallazgos de la cardiopatía chagásica (Ribeiro y col 2012; Dias y col 2016).

Es de destacar que un método diagnóstico accesible para su uso, aún en lugares rurales, como el ECG de 12 derivaciones desempeña un papel clave en la evaluación del paciente con Chagas, ya que permite realizar el diagnóstico de miocardiopatía chagásica, definida por la presencia de alteraciones características en pacientes con serología positiva, aún en ausencia de síntomas (Dias y col 2015).

Aunque éstas anomalías rara vez son específicas, particularmente entre los ancianos que pueden estar originadas por otras cardiomiopatías simultáneas como la hipertensiva y la cardiopatía isquémica (Ribeiro y col 2014).

Éste método ha demostrado ser efectivo en predecir la aparición de insuficiencia cardíaca, accidente cerebrovascular e incluso la muerte y mostrar la progresión de anomalías en el curso de la enfermedad, lo que se asocia a un empeoramiento del daño miocárdico (Maguirey col 1987; Ianni y col 2001, Adam y col 2018).

Las anomalías del ECG fueron más prevalentes en los pacientes con Chagas que en los pacientes seronegativos, y aumentaron con la edad, esto ha sido constantemente demostrado en muchos estudios (Prata y col 1993; Williams-Blangero y col 2007; Marcolino y col 2015).

Maguire y col (1983), al examinar una población del área rural, identificaron que las anomalías en el electrocardiograma eran más frecuentes en pacientes seropositivos para Enfermedad de Chagas, especialmente en el grupo etario entre 25 y 44 años.

Los autores también mostraron que las anomalías en el ECG son más frecuente en hombres que en mujeres (26.1% vs 15.3%). Resultados similares se encontraron en nuestro grupo de trabajo (Ferrero y col 2019).

Los antecedentes más frecuentes en ambos grupos fueron la HTA y la dislipemia, presentando en los seronegativos más diabetes y arritmia que en los seropositivos.

En cuanto a los parámetros ecocardiográficos, los pacientes con serología positiva mostraron una frecuencia superior de dilatación de la aurícula izquierda y de disfunción diastólica.

La Ecocardiografía es una herramienta importante en el manejo de pacientes con enfermedad de Chagas, proporcionando información sobre la estructura y la función cardíaca, útil en el diagnóstico y pronóstico de la enfermedad complementaria a la información proporcionada por el electrocardiograma y de mayor sensibilidad en la detección de alteraciones iniciales de la cardiopatía.

Carmo y col (2009) estudiaron el aumento del volumen de la aurícula izquierda LAV (normalizado para el área de la superficie corporal) como predictor de supervivencia en pacientes con Chagas. Dado a que se relaciona a una elevación sostenida de las presiones de llenado del ventrículo izquierdo en forma crónica, evaluaron parámetros de función diastólica, marcadores pronósticos adicionales a los criterios ecocardiográficos tradicionales. Pudieron demostrar que el agrandamiento del volumen auricular izquierdo es un factor pronóstico independiente de otros parámetros para predecir la supervivencia. Un aumento del volumen de aurícula izquierda $> 51 \text{ ml} / \text{m}^2$ se asoció con un exceso significativo de mortalidad ($p < .001$).

En nuestro trabajo el aumento de volumen de la aurícula izquierda estuvo presente en un número importante de pacientes si bien en su mayoría eran incrementos leves.

El daño producido en la miocardiopatía chagásica crónica, puede deteriorar la relajación ventricular y el llenado diastólico (Andrade y col 1958; Laranja y col 1964; Suarez y col 1968; Oliveira y col 1981; Carrasco y col 1987; Rochitte y col 2005), con evidencia que antecede a la disfunción sistólica (Combellas y col 1985; Migliore y col 1990).

Al igual que en nuestros resultados, la disfunción diastólica es una alteración frecuente, llegando a presentarse hasta en un 20% de los pacientes, con relación al incremento del volumen auricular izquierdo, por elevación de la presión de llenado ventricular izquierdo. Es un parámetro importante ya que su correlación con el agrandamiento de cavidades izquierdas y el deterioro de la función sistólica del ventrículo izquierdo es elevada.

Los hallazgos ecocardiográficos y electrocardiográficos de la miocardiopatía chagásica son en general inespecíficos y pueden ser similares a los observados en otras cardiomiopatías (isquémicas y no isquémicas), por lo que resulta indispensable su correcta evaluación y mayor investigación para estimar la sensibilidad y especificidad de tales anomalías.

En los pacientes mayores de 60 años, con serología positiva los antecedentes personales patológicos que se observaron con mayor frecuencia fueron las arritmias y la insuficiencia cardíaca ($p < 0.05$), como era esperable, y la diabetes y la dislipemia en el grupo control ($p < 0.05$).

Dentro de las arritmias descritas se encontraron: la fibrilación auricular y arritmias supra-ventriculares; con menos frecuencia arritmias ventriculares complejas.

La fibrilación auricular como lo demuestran numerosos trabajos, está asociada a diferentes cardiopatías, presentando una prevalencia mayor en ancianos, especialmente en hombres, similar a otras miocardiopatías. Es un indicador de peor pronóstico, por lo que resulta importante su identificación para estratificar el riesgo de los pacientes (Ribeiro y col 2013; Marcolino y col 2015).

En la miocardiopatía chagásica crónica, uno de los posibles síndromes clínicos con los que se manifiesta son los fenómenos tromboembólicos, entre ellos, el accidente cerebrovascular, cuyo riesgo de muerte parece ser mayor que en pacientes seronegativos (Lima- Costa y col 2010).

La presencia de arritmias como la fibrilación auricular, incrementa el riesgo de padecerlo, aunque en un trabajo se demostró que no se asociaba a la aparición de ACV, mientras que el aneurisma apical y la presencia de trombo en el ventrículo izquierdo estaban fuertemente relacionados (Lima- Costa y col 2010; Nunes y col 2015).

La fibrilación auricular, si bien es prevalente en la edad avanzada con trastorno estructural como sustrato, también se ha asociado a trastornos en la función de la SCN5A como en las subunidades beta, en pacientes con corazón estructuralmente sano. Este hecho es de importancia, ya que la presencia de ésta arritmia constituye un factor independiente de mal pronóstico de la enfermedad de Chagas (Olesen y col 2011; Damarco y Clancy 2016).

Por otro lado la hipertensión, la diabetes, la cardiopatía isquémica y los trastornos de conducción intraventriculares, como antecedentes relevantes, estuvieron presentes con frecuencias similares tanto en los pacientes con serología positiva como negativa.

Al igual que en el grupo de pacientes menores de 60 años, en los individuos mayores de esa edad se evidenció que dentro de las manifestaciones clínicas predominaban la disnea, las palpitaciones y el edema de miembros inferiores en el examen físico.

El grupo con serología positiva presentó con una frecuencia significativamente mayor en el trazado electrocardiográfico, trastornos inespecíficos aunque frecuentes de la enfermedad de Chagas tales como: los trastornos de la repolarización ventricular, bloqueo completo de rama derecha, hemibloqueo anterior izquierdo, extrasístoles ventriculares ($p < 0.05$), demostrando que el paso del tiempo agrava la cardiopatía de manera significativa.

La elevada prevalencia de anomalías en el ECG en pacientes añosos con enfermedad de Chagas, se explica, no solo por la presencia de otras etiologías de cardiopatía concomitantes, sino también por el tiempo de evolución de la miocardiopatía chagásica (Ribeiro y col 2014).

La cardiopatía chagásica puede manifestarse con cualquier alteración del ECG, pero los trastornos de conducción y las extrasístoles ventriculares (VES) son las más comunes.

La frecuencia de las alteraciones ECG depende de la población estudiada. Ha sido demostrado en diferentes trabajos una notable prevalencia del bloqueo completo de rama derecha asociada a la enfermedad de Chagas (Rodríguez y col 2013; Marcolino y col 2015).

También la presencia del bloqueo completo de rama derecha asociado al hemibloqueo anterior izquierdo, es un trastorno de conducción prevalente en la cardiopatía chagásica comparado con otras etiologías de cardiomiopatías (Bestetti y col 1997; Rodriguez y col 2013).

Las extrasístoles ventriculares son trastornos frecuentes en pacientes con Chagas y se asocian a un peor pronóstico, no obstante, son inespecíficas, y pueden estar presentes en el ECG de individuos sanos (Prata y col 1993; Barretto y col 1995).

Cuando consideramos las alteraciones ecocardiográficas entre los pacientes mayores de 60 años, no encontramos diferencias significativas; aunque esperábamos mayor daño estructural en los pacientes con Chagas por el tiempo de evolución de la enfermedad, lo cual puede deberse a la presencia de un gran número de comorbilidades entre los pacientes seronegativos. Los trastornos que se evidenciaron con mayor frecuencia fueron: el agrandamiento de la aurícula izquierda, la disfunción diastólica, la hipertrofia ventricular y las valvulopatías.

De los pacientes antes descritos, se analizaron 95 muestras sanguíneas (70 seropositivos y 25 seronegativos), con el objetivo de correlacionar los polimorfismos H558R y A572D del gen SCN5A como factores predictores de susceptibilidad para desarrollar cardiopatía chagásica o para el agravamiento de la misma.

El polimorfismo (alteración de un gen que ocurre en más del 1 % de la población) es una variación nucleotídica que puede determinar un cambio en la función de la proteína, de suma importancia, ya que existen polimorfismos genéticos que determinan mayor probabilidad de padecer una enfermedad en una población concreta como ya lo demostrara Brugada en 1998.

La mutación del gen de la SCN5A puede producir miocardiopatía dilatada, típica de la Enfermedad de Chagas muy avanzada, aunque los mecanismos involucrados no están claros, y puede implicar una compleja interacción de la alteración de la corriente del canal de sodio, anomalías estructurales del miocardio y la presencia de arritmias de larga evolución, síntomas habituales de encontrar en el enfermo chagásico (Shen y col 2017).

Se presenta con gran variabilidad genética y se asocia a más de 40 genes que codifican proteínas de membrana y sarcoméricas (Hershberger y col 2013; Zhang y col 2018); aunque la frecuencia de los casos mediados por SCN5A en pacientes con cardiomiopatía dilatada es solo alrededor del 2% (Olson y col 2005).

La prevalencia de las miocardiopatías y los trastornos de los canales iónicos cardíacos en la población general es relativamente alta. La prevalencia de la miocardiopatía hipertrófica representa 1:500, Miocardiopatía dilatada 1:2500 y miocardiopatía arritmogénica del ventrículo derecho y todas las canalopatías cardíacas son aproximadamente 1:2000 (Marcus y col 2010; Sanbe 2013; Abriel y col 2013).

Gracias al desarrollo del campo genético y métodos no invasivos de imágenes, más patologías pueden ser diagnosticadas, para estratificar el riesgo e implementar medidas de prevención de la muerte súbita (Tamariz y col 2019).

Una de las patologías capaces de provocar muerte súbita es el Síndrome de Brugada que es una canalopatía en personas con corazón estructuralmente normal, caracterizado por la presencia de bloqueo de rama derecha y elevación del segmento ST de las derivaciones precordiales derechas del electrocardiograma (Brugada y col 1992), síntomas muy frecuentes en los pacientes chagásicos jóvenes.

Se hereda con patrón autosómico dominante y se estima que el 25% de los pacientes tendrían mutaciones en el gen SCN5A, que codifica la subunidad alfa del canal de sodio cardíaco. Se conocen más de 100 mutaciones en éste gen que se traduce en la pérdida de la función del canal, y reducción de la velocidad de la rápida despolarización conduciendo al enlentecimiento de la conducción auricular y ventricular, la cual se ve traducida en la prolongación de los intervalos PR y QRS en el ECG (Tan y col 2003; Viswanathan y col 2004; Zaklyazminskaya y col 2016).

También se han descrito diferentes genes con mutaciones en el Síndrome de Brugada (García-Castroa y col 2010; Chen y col 2019).

Otras patologías causadas por mutaciones en el gen de SCN5A son el defecto progresivo de la conducción cardíaca y el síndrome del seno enfermo, ambos representan una modificación genética con pérdida de la función del canal. Esta se manifiesta con trastornos en la conducción de ambas ramas y el sistema His - Purkinje, conduciendo a un bloqueo aurículo ventricular completo en el primer caso, y a la presencia de bradicardia, bloqueo

sinoauricular y parada auricular en el segundo caso (Wolf y col 2006; Lei y col 2008); Watanabe y col 2008).

Variantes raras del gen SCN5A se asociaron a Displasia arritmogénica del ventrículo derecho y cardiomiopatía dilatada (Bezzina y col 2003; Pérez Riera y col 2005).

Las alteraciones encontradas consisten tanto en pérdida como en ganancia de la función y parecen estar preferentemente localizadas en el sensor de voltaje del canal (Ge y col 2008; Nguyen y col 2008, McNair y col 2011).

Por ejemplo, el poliformismo H558R es el más frecuentemente observado en la población general y cuando coexiste con mutaciones de SCN5A puede modificar las manifestaciones clínicas de las cardiopatías (Viswanathany col 2003; Shinlapawittayatorn y col 2011; Wilders 2018).

Iwasay col (2000) fueron los primeros en informar sobre el polimorfismo de un solo nucleótido ("SNP") en el gen SCN5A, responsable de la sustitución de histidina (H) por arginina (R) en la posición 558 de la proteína Nav1.5 (p.His558Arg o H558R), en relación con los LQTS familiares. Ackerman y col (2004) mostraron que el polimorfismo más común en la SCN5A es el H558R y que ésta variante está presente en los cuatro grupos étnicos, aunque con una prevalencia significativamente menor en los asiáticos.

Hay evidencia suficiente que el polimorfismo H558R puede mitigar o agravar los efectos de mutaciones específicas en SCN5A.

Son ejemplos de esto, las mutaciones M1766L (Ye y col 2003) y P2006A (Shinlapawittayatorn y col 2011), en donde la coexistencia con el polimorfismo atenúa sus efectos. También se describen efectos agravantes sobre las mutaciones G400A (Huy col 2007) y A572D (Tester y col 2010).

La variante genética A572D representa una sustitución de citosina (C) por adenina (A) en la posición del nucleótido 1715 (1715 c>a), alanina, por ácido aspártico, en la posición del aminoácido 572. A572 se localiza en el enlazador DI-DII entre dominios de Nav1.5

Se ha estudiado la variante A572D-SCN5A como causa de LQT3, o como un posible modificador funcional (Paulussen y col 2003; Tester y col 2005).

Ésta rara variante se encuentra presente en 1:200 de una muestra de población caucásica mixta y hasta 1:17 personas finlandesas, y demostró no ser una mutación patógena independiente causante de LQT3.

Pero en cambio, está invariablemente ligada al polimorfismo común H558R, donde puede conferir susceptibilidad pro arrítmica, especialmente bajo factores como el estrés, fármacos, etc.

El polimorfismo A572D fue identificado en la evaluación de pacientes con torsades de pointes y muerte súbita (Tester y col 2005).

Cada vez se aportan más pruebas epidemiológicas, moleculares y funcionales que afirman que A572D vinculada a H558R, es funcionalmente aberrante pero no patogénica. Funcionalmente, los canales de sodio que contienen R558 / D572 exhiben una disfunción moderada similar a la LQT3 que podría contribuir a un mayor riesgo de arritmias en algunos pacientes.

Otros factores no genéticos, mencionados como determinantes de la heterogeneidad son la edad, el género, la obesidad, la enfermedad coronaria, la diabetes, los fármacos, los tóxicos y especialmente la hipertensión arterial que induce remodelado miocárdico progresivo, hipertrofia y alteraciones eléctricas que pueden actuar de forma sinérgica con las alteraciones secundarias a la mutación y constituir un sustrato pro arrítmico (Coronel y col 2005; Nadruz y col 2015).

Además de la importancia que tienen el estudio de polimorfismos del canal de sodio SCN5A, otros factores también se encuentran involucrados en el desarrollo o no de la cardiopatía chagásica o de diferentes manifestaciones clínicas a saber:

Se ha sugerido que las poblaciones o cepas de parásitos infectantes genéticamente diferentes podrían estar involucrados en la forma clínica de la Enfermedad de Chagas (Montamat y col 1996; Zingales y col 2012), como también la exposición a reinfecciones (Bustamante y col 2007) tendría implicancias en la evolución. Otros factores mencionados son el estado general de salud de los infectados y los antecedentes genéticos de los mismos (Dutra y col 2009; Vasconcelos y col 2012).

Además se ha demostrado que variaciones en la respuesta inmune del huésped, como polimorfismos en IL-1 (interleucina-1), CCR5 (C-C receptor de quimiocinas tipo 5), MCP-

1 (quimioatrayente de monocitos) proteína-1), TNF- α (factor de necrosis tumoral alfa), e IL-10 (interleucina-10) contribuyen al desarrollo de la miocardiopatía chagásica crónica (CCC) (Cunha-Neto y col 2014).

Por todo ello en el presente trabajo, estudiamos a los polimorfismos H558R y A572D del gen de la subunidad α del canal de sodio (SCN5A) dependiente de voltaje que se ubica en el cromosoma 3 y consta de 101617 bases y 28 exones que codifican para 2016 aminoácidos de la proteína de membrana integral.

Dada la evidencia disponible sobre el rol de esas variaciones en el funcionamiento del canal y de las manifestaciones clínicas, nos propusimos determinar si las mismas tenían influencia o repercusión en alteraciones electrocardiográficas de pacientes chagásicos y nos ayudaban a detectar un perfil genético de riesgo a desarrollar cardiopatía.

Los síndromes cardíacos muestran características fenotípicas y biofísicas distintas. También se ha informado que mutaciones particulares en SCN5A puede conducir a una variedad de signos clínicos, o ningún síntoma, incluso dentro de una misma familia. Además, la gravedad de la enfermedad puede variar considerablemente entre pacientes portadores de la misma mutación. Las razones son desconocidas, pero la evidencia está aumentando sobre la influencia de varias condiciones cardíacas y no cardíacas, en la expresividad y severidad de las canalopatías SCN5A heredadas.

El polimorfismo de histidina-558 a arginina (H558R) (rs1805124, T> C, cadena directa) en el gen SCN5A es un polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) ampliamente informado que se correlaciona con las propiedades electrofisiológicas moduladoras de las células miocárdicas (Tan y col 2005; Jiang y col 2014).

El polimorfismo alanina-572 a asparte (A572D) (rs36210423) es otra variante en el gen SCN5A, el alelo principal (en la cadena directa) es G; los tres posibles alelos menores (T, A, C) aparentemente han sido reportados, de acuerdo con dbSNP, y de estos, T sería el más común en las poblaciones latinoamericanas (Autony col 2015).

Aunque se ha informado que los polimorfismos H558R y A572D están presentes en muchos trastornos cardíacos, ningún estudio ha evaluado su prevalencia en pacientes chagásicos.

Se sospecha que los factores ambientales y las comorbilidades modifican la gravedad de la enfermedad y la expresividad, sin embargo, hasta ahora están en gran parte inexplorados como la heterogeneidad genética de los pacientes.

De los 189 pacientes estudiados, se analizaron 95 muestras sanguíneas (70 seropositivos para antígenos de *T. cruzi* y 25 seronegativos), con el objetivo de correlacionar la evaluación clínico-cardiológica, la serología positiva o negativa y los polimorfismos H558R y A572D del gen SCN5A como factores predictores de susceptibilidad para desarrollar cardiopatía. Para este análisis se clasificó a los pacientes en G1: sin alteraciones electrocardiográficas y G2: con alteraciones eléctricas y/o ecocardiográficas.

La edad media de los pacientes fue de $62,4 \pm 11,7$ años. Siendo significativamente menor en el G1 como es de esperar.

La mayoría presentaron alteraciones eléctricas y ecocardiográficas (G2) n:71, lo cual tiene implicancia en la esperanza de vida, ya que se ha evidenciado que mientras la supervivencia en pacientes con ECG normales es compatible con su género y edad, la presencia de anomalías se asocia a un incremento en la mortalidad, aún sin síntomas de insuficiencia cardíaca; también autores han demostrado que la mortalidad se incrementa cuando las alteraciones electrocardiográficas se asocian y la presencia de tres o más de ellas indican un mal pronóstico (Porto 1968; Espinosa y col 1985; Maguire y col 1987).

Las alteraciones clínicas, ecocardiográficas y electrocardiográficas fueron más frecuentes entre los pacientes seropositivos. Entre los trastornos encontrados se describen: la fracción de eyección de ventrículo izquierdo disminuída $p < 0.0058$; la dilatación del ventrículo izquierdo $p < 0.032$; QTc prolongado $p < 0.049$ e insuficiencia cardíaca $p < 0.0071$.

Los parámetros antes descriptos, son frecuentes en etapas avanzadas de la enfermedad; en pacientes con ECG anormales, la función sistólica global tiene implicancias pronósticas. La tasa de supervivencia a los cinco años para los pacientes con fracción de eyección del

ventrículo izquierdo conservada fue del 98%, con deterioro leve 91%, con una reducción significativa en fallo cardíaco reversible del 45%, y del 13% con fallo irreversible (Xavier y col 2005).

Un intervalo QT más amplio, como el mostrado por nuestro grupo de pacientes, se ha relacionado con la muerte y posiblemente sea un factor determinante de muerte súbita arrítmica (Salles y col 2003); además el síndrome de QT largo que se caracteriza por una grave alteración en la repolarización ventricular, predispone a arritmias ventriculares malignas (*torsade de pointes*) y muerte súbita por este mecanismo (Veerman y col 2015; Bouza e Isom 2018; Crinion y col 2019). Se ha determinado que éstas alteraciones se deben a mutaciones en el canal de sodio voltaje dependiente tipo V. Clínicamente tiene una presentación variable, desde asintomática hasta síncope y muerte súbita como primera manifestación. También expresa una heterogeneidad genética con el reconocimiento de más de 500 mutaciones en al menos 10 genes, entre los cuales se menciona el gen de SCN5A.

El estudio genético ha proporcionado la posibilidad del diagnóstico en estos casos individuales y en los miembros de la familia, con la posibilidad de instaurar un tratamiento adecuado, minimizando los riesgos de muerte (Ge y col 2019).

El agrandamiento de la aurícula izquierda (DAI) detectada a través de ecocardiografía fue un signo frecuente, tanto en los pacientes con serología positiva como negativa ya que la hipertensión arterial estuvo presente en ambos grupos por igual.

Para evaluar la asociación entre la variante H558R del gen SCN5A y la susceptibilidad a la infección por *T. cruzi*, se compararon las frecuencias alélicas y genotípicas de los individuos seronegativos y seropositivos mediante la prueba de la χ^2 y el análisis de regresión logística.

Entre los pacientes con serología positiva el genotipo más frecuente fue el heterocigoto TC con un 48,5% seguido del homocigota CC con un 35,7% y del TT con un 15,8%.

Los pacientes del grupo control también presentaron con mayor frecuencia el genotipo heterocigota TC con un 48%, seguido del homocigota CC con un 40% y del TT con un 12%. Esta distribución en nuestro trabajo coincide con la distribución genotípica de la

población con ascendencia europea (Akerman y col 2004) en los cuales se describe el genotipo heterocigota como el más frecuente.

El genotipo heterocigota TC presentó con mayor frecuencia signos y síntomas de insuficiencia cardíaca tales como: disnea, disnea paroxística nocturna, palpitaciones, ingurgitación yugular, hepatomegalia, en pacientes seropositivos, pero sin lograr demostrar diferencias significativas con el grupo control.

A diferencia de lo publicado por otros autores (Nikulina y col 2015) en donde el genotipo heterocigota constituye un factor genético predictor de trastornos de conducción aurículoventricular e intraventricular (bloqueo idiopático completo, bloqueo completo de rama derecha, bloqueo de rama izquierda y hemibloqueo anterior izquierdo) en nuestro grupo de pacientes no se pudo demostrar tales conclusiones, probablemente se lograría de contar con un número superior de pacientes. Coincidentemente, el genotipo heterocigota fue más frecuente en los pacientes con enfermedad de Chagas.

Svetlana y col demostraron también que el genotipo heterocigota del polimorfismo H558R es un predictor genético de trastornos de conducción aurículo ventriculares e intraventriculares tales como: el bloqueo aurículo ventricular idiopático, bloqueo completo de rama derecha, hemibloqueo anterior izquierdo y bloqueo completo de rama izquierda, mientras que el genotipo homocigota CC resulta un factor protector.

Otros autores también han puesto en evidencia, que los portadores del genotipo heterocigoto del polimorfismo H558R del gen SCN5A presentaban con más frecuencia bloqueo primario de rama izquierda, mientras que los homocigotos presentaban una frecuencia menor de dicha alteración de la conducción, proponiendo a éste genotipo como un factor de susceptibilidad (Chenova y col 2014).

El genotipo CC en pacientes seronegativos evidenció con mayor frecuencia alteraciones como bradicardia y taquicardia sinusal, bloqueo aurículo-ventricular, extrasístoles supraventriculares y QT prolongado como hubiese sido esperable en los pacientes chagásicos. Sin embargo obtuvimos resultados opuestos a lo estimado hecho atribuible a gran cantidad de comorbilidades del grupo control.

También fue demostrado por diversos autores que el genotipo CC del polimorfismo H558R en el gen SCN5A se asoció a la muerte en el contexto de la cardiopatía isquémica crónica (Marcsa y col 2015).

Los portadores del alelo C con serología positiva presentaron significativamente más trastornos de conducción intraventricular (OR: 0.37 IC95% 0.17 - 0.85 p: 0.0182) y trastorno de repolarización ventricular (OR: 0.39 IC95% 0.18 – 0.87 p: 0.02117), mientras que los los pacientes seronegativos evidenciaron disfunción diastólica (OR: 10 IC 95% 2 – 49.95 p: 0.0047).

Se han puesto en evidencia más de 700 localizaciones de variantes en SCN5A asociadas a patologías cardíacas. La disfunción de la subunidad alfa del canal de sodio voltaje dependiente está regulada por más de veinte proteínas y puede no solo ser causa sino también una consecuencia de distintas alteraciones cardíacas. La expresión y función del SCN5A puede ser regulada por vías de señalización que se pueden activar transitoriamente ante diversas alteraciones de los cardiomiocitos. La variabilidad y la gravedad de los fenotipos clínicos puede tener diferencias individuales o familiares, incluso ser debida a la presencia de genes reguladores o factores ambientales como también el consumo de medicamentos pueden modificar la expresividad y también podría ser explicada con la asociación de otros polimorfismos en el mismo gen, e incluso en otros genes simultáneamente (Gouas y col 2015).

El hecho de que los pacientes con serología positiva presenten trastornos de conducción y de repolarización de manera significativa con respecto al grupo control puede ser explicado en el contexto de la interacción del parásito con el huésped, factores genéticos, la respuesta inflamatoria crónica, los focos de fibrosis, ya que como fuera descrito previamente las alteraciones de los miocardiocitos por diversas etiologías pueden desencadenar una alteración en la expresión y función de los canales, constituyendo un sustrato para el desarrollo de trastornos eléctricos. Otro elemento de importancia en la evaluación de los pacientes es la presencia de co- morbilidades, que se evidenciaron de manera similar entre los grupos, otorgando a la infección por *T cruzi* un papel fundamental en la génesis de las alteraciones electrocardiográficas.

La gran variabilidad en los trastornos eléctricos que exhiben los pacientes con Chagas puede ser debida a la asociación simultánea de polimorfismos en el gen SCN5A, incluso en otros genes como los reguladores del canal.

Con respecto a al trastorno de repolarización ventricular asociado al alelo C, Boddum y col (2018) describieron una variante de SCN5A con un fenotipo que asociaba anomalías eléctricas como trastorno de repolarización ventricular en cara anteroseptal, fibrilación auricular, bloqueo de rama izquierda intermitente con alteraciones estructurales, ampliando el espectro de fenotipos cardíacos asociados a ésta canalopatía y destacando las complejas manifestaciones de las variantes genéticas en éste gen, con particular importancia la asociación con otras alteraciones genéticas y su interacción con factores ambientales que pueden modificar la expresividad de dichos trastornos.

Los portadores del alelo C, también han sido identificados como susceptibles de padecer fibrilación ventricular en el contexto del infarto de miocardio con elevación del segmento ST (Jabbari y col 2017).

Trabajos de otros autores en donde se evaluó el polimorfismo H558R del gen SCN5A en la enfermedad de Keshan, que es una cardiopatía arritmogénica que se presenta en regiones pobres de selenio en China, caracterizada por trastornos eléctricos como el bloqueo de rama derecha, cambios ST y onda T, hemibloqueo anterior izquierdo y una variedad de arritmias, evidenciaron que el genotipo de mayor frecuencia entre los pacientes fue el homocigoto TT(80%), mientras que los portadores de los genotipos TC y CC (portadores c) presentaron significativamente una disminución del riesgo de desarrollar la enfermedad y menor riesgo de la prolongación del QRS (Jiang y col 2012).

En éste caso, ser portador del alelo C parece constituir un factor protector, a diferencia de nuestro hallazgo.

El QTc prolongado (que presentaron los pacientes homocigotas CC seronegativos) también ha sido sugerido por Gouas y col (2015) que determinantes genéticos localizados en genes como KCNQ1, KCNE1, KCNH2 y SCN5A influyen en la duración del intervalo QT de individuos sanos, y pueden predisponerlos a sufrir arritmias o muerte súbita en el contexto de otras patologías cardiovasculares o el consumo de diferentes drogas.

Matsumura y col (2017) evidenciaron que el polimorfismo H558R, cuando coexiste con una mutación puede modificar su penetrancia actuando como un modulador genético. En el síndrome de Brugada ha sido informado que la presencia del alelo C mejora las características clínicas y eléctricas entre los pacientes con mutaciones en SCN5A. Es posible que los cambios epigenéticos en genes críticos contribuyan al incremento de la morbilidad por enfermedades crónicas como la diabetes, el síndrome metabólico y enfermedad cardiovascular.

Con respecto al polimorfismo A572D del gen SCN5A el genotipo de mayor frecuencia fue el homocigota AA tanto en pacientes con Chagas (56,7%) como en el grupo control (56,5%).

Ambos grupos seropositivos y seronegativos homocigotas AA evidenciaron síntomas y signos de insuficiencia cardíaca descompensada con trastornos eléctricos y ecocardiográficos con mayor frecuencia, sin diferencias estadísticamente significativas entre los grupos.

Al comparar las frecuencias alélicas y genotípicas para SCN5A A572D de los pacientes seropositivos pertenecientes al grupo G1, es decir que no presentaban alteraciones electrocardiográficas y/o ecocardiográficas, con los pacientes del grupo G2 , es decir con alteraciones electrocardiográficas y/o ecocardiográficas, no pudimos demostrar diferencias significativas ó asociación entre este polimorfismo y las características clínicas.

Resulta esencial interpretar los resultados de los fenotipos clínicos teniendo en cuenta la presencia de genotipos asociados. En nuestros pacientes el análisis de ambos polimorfismos, nos permitió objetivar una asociación entre el genotipo TC (H558R) y AA (A572D) para la mayoría de los parámetros estudiados.

Por otro lado la amplificación de ADN mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la detección específica de *Trypanosoma cruzi* en muestras de sangre humana ha demostrado ser útil en la determinación de parásitos en pacientes con enfermedad crónica, complementario al diagnóstico serológico así para el reconocimiento de la reactivación de la enfermedad.

Nos planteamos entonces si la presencia de ADN de *T. cruzi* podría conferir más riesgo de mayor sintomatología y trastornos de conducción, como lo demostráramos en trabajos previos de nuestro laboratorio (Ferrero 2019), ya que la persistencia del parásito ejerce un estímulo de inflamación crónica y continúa dañando de manera sistemática al miocardio. Los presentes resultados no demostraron mayores síntomas y/o signos en pacientes PCR positivos, hecho que si bien acuerda con lo planteado por el estudio multicéntrico BENEFIT que estableció que realizar el clearance de parásitos mediante tratamiento no mejoró la evolución de la miocardiopatía (Morillo y col 2015), resulta discutible y en nuestro caso puede ser atribuible al número de pacientes estudiados.

Cuando analizamos la correlación entre la persistencia de *T. cruzi* circulante y los genotipos de los dos polimorfismos analizados, se observó una mayor frecuencia de PCR positivas en pacientes con genotipo heterocigota del polimorfismo H558R.

El estudio y la identificación de factores de riesgo genético, que constituyen un sustrato para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, entre ellas, la miocardiopatía chagásica, representa una herramienta invaluable en la evaluación y estratificación de los pacientes con el fin de ofrecer medidas de prevención y una terapia precisa, oportuna e individualizada.

Conclusiones

- En los pacientes menores de 60 años con serología positiva se evidenció más clínica cardiovascular, trastornos de repolarización ventricular en el electrocardiograma y dilatación de la aurícula izquierda como disfunción diastólica en el ecocardiograma, mientras que en los pacientes seronegativos predominaron los trastornos de conducción severos (BRD, HBAI, BRI, bloqueo AV).
- Los pacientes mayores de 60 años seropositivos presentaron con una frecuencia significativamente mayor antecedentes de arritmia (fibrilación auricular y taquicardia paroxística supraventricular) e insuficiencia cardíaca, mientras que los seronegativos diabetes y dislipemia.
- Las alteraciones clínicas (como la disnea y las palpitaciones) y electrocardiográficas fueron más frecuentes entre los pacientes seropositivos. Se describieron: los trastornos de la repolarización ventricular, el bloqueo completo de rama derecha, el hemibloqueo anterior izquierdo y las extrasístoles ventriculares $p < 0.05$. Las manifestaciones ecocardiográficas de mayor frecuencia son: la fracción de eyección de ventrículo izquierdo disminuída, la dilatación de la aurícula izquierda y las valvulopatías, sin diferencia significativa entre los grupos.
- Los pacientes con Enfermedad de Chagas exclusivamente, sin comorbilidades obtuvimos un grupo de 12 integrantes, de los cuales la mitad eran heterocigotas para ambos polimorfismos estudiados.
- El genotipo heterocigota TC se presentó con mayor frecuencia en la totalidad de los pacientes estudiados para el genotipo H558R (rs1805124) del gen SCN5A.
- Los portadores del genotipo heterocigota TC seropositivos presentaron mayor frecuencia de síntomas y signos de insuficiencia cardíaca descompensada, mientras

que el genotipo homocigota CC en los seronegativos se asoció a trastornos eléctricos y ecocardiográficos aunque sin diferencias significativas entre los grupos.

- El análisis de regresión logística mostró que el alelo C en seropositivos se asoció significativamente con un mayor riesgo de desarrollar trastorno de conducción ventricular y trastorno de repolarización ventricular y en seronegativos con disfunción diastólica.
- Para el polimorfismo A572D (rs36210423) del gen SCN5A el genotipo de mayor frecuencia fue el homocigota AA tanto en pacientes con Chagas como en el grupo control, presentando trastornos eléctricos y ecocardiográficos sin diferencia significativa entre los grupos.
- La persistencia de *T. cruzi* fue mas frecuente en pacientes con genotipo heterocigota del polimorfismo H558R aunque no se asoció a mayores trastornos del electrocardiograma y ecocardiograma.
- En el presente trabajo demostramos que pacientes con serología positiva para Enfermedad de Chagas y portadores del alelo C del polimorfismo H558R tienen mayor susceptibilidad para los trastornos de conducción y repolarización del miocardio pudiendo ser utilizado el estudio de éste polimorfismo del gen SCN5A como posible marcador de aparición y progresión de las manifestaciones cardíacas de la Enfermedad de Chagas (30% de los pacientes infectados) y explicar por qué el resto permanece asintomático, permitiendo establecer un pronóstico y un tratamiento más adecuados para esta patología.

Bibliografía

- Abriel H, Zaklyazminskaya E. Cardiac channelopathies: genetic and molecular mechanisms, *Gene* 15 1–11; 2013.
- Ackerman MJ, Splawski I, Makielski JC, Tester DJ, Will ML, Timothy KW, Keating MT, Jones G, Chadha M, Burrow CR, Stephens JC, Xu C, Judson R, Curran ME. Spectrum and prevalence of cardiac sodium channel variants among black, white, Asian, and Hispanic individuals: implications for arrhythmogenic susceptibility and Brugada/long QT syndrome genetic testing. *Heart Rhythm* 1:600–607; 2004.
- Alarcón de Noya B, Noya González O, Robertson LJ. *Trypanosoma cruzi* as a foodborne pathogen. *SpringerBriefs in Food, Health, and Nutrition*. New York, Heidelberg, Dordrecht, London: Springer. 92 p; 2016.
- Altemani AM, Bittencourt AL, Lana AM. Immunohistochemical characterization of the inflammatory infiltrate in placental chagas´disease: A cualitative and quantitative analysis. *Am J Trop Med Hyg.* 62: 319-324; 2000.
- Altschuller MB, Pedrosa RC, Pereira B de B, Correa Filho WB, Medeiros AS, Costa PC. & de Carvalho AC. Chronic Chagas disease patients with sinus node dysfunction: is the presence of IgG antibodies with muscarinic agonist action independent of left ventricular dysfunction? *Rev Soc Bras Med Trop* 40:665 – 671; 2007.
- Alves MJM & Colli W. *Trypanosoma cruzi*: Adhesion to the Host Cell and Intracellular Survival. *IUBMB Life* 59: 274 – 279; 2007.
- Amorim DS, Manco JC, Gallo L Jr, Marin Neto JA. Chagas' heart disease as an experimental model for studies of cardiac autonomic function in man. *Mayo Clinic Proc* 57:48-60; 1982.
- Andrade LO, Machado CRS, Chiari E, Pena SDJ, Macedo AM. *Trypanosoma cruzi*: role of host genetic background in the differential tissue distribution of parasite clonal populations. *Experimental Parasitol.* 100:269–275; 2002.
- Andrade SG, Andrade ZA. Pathology of prolonged experimental Chagas´Disease. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 10:180–187; 1968.
- Andrade SG, Pimentel AR, de Souza MM, Andrade ZA. Interstitial dendritic cells of the Heart harbor *Trypanosoma cruzi* antigens in experimentally infected dogs: importance for the patogenesis of chagasic miocarditis. *Am J Trop Med Hyg.* 63:64-70; 2000.
- Andrade SG. *Trypanosoma cruzi*: clonal structure of parasite strain and the importance of principal clones. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 94: 185-187; 1999.
- Andrade ZA, Andrade SG, Sadigursky M, Wenthold RJ Jr, Hilbert SL, Ferrans VJ. The indeterminate phase of Chagas´ disease: ultrastructural characterization of cardiac changes in the canine model. *Am J Trop Med Hyg.* 57:328–336; 1997.
- Andrade ZA. A patologia da doenca de Chagas no honen. *Ann Soc Belge Med Tropical.* 65:15-30; 1985.
- Andrade ZA. Mechanisms of myocardial damage in *Trypanosoma cruzi* infection. *Ciba Found Symp* 99: 214–233; 1983.

- Andrade ZA. Pathologic anatomy of Chagas disease. *Rev Goiania Med.*4:103–119; 1958.
- Andrade ZA. The pathology of Chagas disease in man. *Ann Soc Belg Med Trop.* 65:15–30; 1985.
- Andrews NW. Lysosomes and the plasma membrane: trypanosomes reveal a secret relationship. *J Cell Biol.* 158: 389-94; 2002.
- Añez N, Carrasco H, Parada H, Crisante G, Rojas A, Fuenmayor C, Gonzalez N, Percoco G, Borges R, Guevara P, Ramirez JL. Myocardial parasite persistence in chronic Chagasic patients. *Am J Trop Med Hyg.* 60:726–732; 1999.
- Aoki MP, Carrera-Silva EA, Cuervo H, Fresno M, Gironès N, Gea S. *J Parasitol Res.* 737324:1-13; 2012.
- Argelia Medeiros D, Iturralde-Torresb P y Ackermanc MJ. Clínica y genética en el síndrome de QT largo. *Rev Esp. Cardiol.* 60:739-52; 2007.
- Armstrong CM, Bezanilla F. Inactivation of the sodium channel. II. Gating current experiments. *J Gen Physiol.* 70:567-90; 1977.
- Armstrong CM. Sodium channel and gating currents. *Physiol Rev* 61:644-682; 1981.
- Arteaga-Fernandez E, Barretto AC, Mady C, Ianni BM, Bellotti G, Pileggi F. The electrocardiogram in patients with positive serological reactions for Chagas' disease. Study of 600 cases. *Arq Bras Cardiol.* 44:333-337; 1985.
- Ashton AW, Mukherjee S, Nagajyothi F, Huang H, Braunstein VL, Desruisseaux MS, Factor SM, Lopez L, Berman JW, Wittner M, Scherer PE, Capra V, Coffman TM, Serhan CN, Gotlinger K, Wu KK, Weiss LM & Tanowitz H. B. Thromboxane A2 is a key regulator of pathogenesis during *Trypanosoma cruzi* infection. *J Exp Med* 204: 929-940; 2007.
- Atías A. A case of congenital chagasic megaesophagus: evolution until death caused by esophageal neoplasm, at 27 years of age. *Rev Med Chile* 122:319–322; 1994.
- Avila HA, Sigman DS, Cohen LM, y col. Polymerase chain reaction amplification of *T. cruzi* kinetoplast minicircle DNA isolated from whole blood lysates: diagnosis of chronic Chagas' disease. *Mol Biochem Parasitol* 48: 211-221; 1991.
- Ayo CM, Dalalio MM, Visentainer JE, Reis PG, Sippert EÂ, Jarduli LR, et al. Genetic susceptibility to Chagas disease: an overview about the infection and about the association between disease and the immune response genes. *Biomed Res Int.*284729–284729; 2013.
- Balser JR. The cardiac sodium channel: gating function and molecular pharmacology. *J Mol Cell Cardiol* 33:599-613; 2001.
- Barbosa-Ferreira JM, Nobre AF, Maldonado JG, Borges-Pereira J, Zauza PL, Coura JR. Stroke in a chronic autochthonous chagasic patient from the Brazilian Amazon. *Rev Soc Bras Med Trop* 43:751–3; 2010.
- Barreto de Albuquerque J, Silva dos Santos D, V. Stein J, and de Meis J. Oral versus intragastric inoculation: Similar Pathways of *Trypanosoma cruzi* experimental infection? From Target Tissues, Parasite evasion, and immune Response. *Front Immunol.* 9: 1734; 2018.
- Barretto AC, Bellotti G, Deperon SD, Arteaga-Fernandez E, Mady C, Ianni BM, et al. The value of the electrocardiogram in evaluating myocardial function in patients with Chagas' disease. *Arq Bras Cardiol.* 52:69-73; 1989.

- Barros MV, Machado FS, Ribeiro AL, et al. Diastolic function in Chagas' disease: an echo and tissue Doppler imaging study. *Eur J Echocardiogr* 5: 182-188; 2004.
- Basquiera AL, Sembaj A, Aguerri AM, Omelianiuk M, Guzman S, Moreno Barral J, Caeiro TF, Madoery RJ, Salomone OA. Risk progression to chronic Chagas cardiomyopathy: influence of male sex and of parasitaemia detected by polymerase chain reaction. *Heart*. 89: 1186-1190; 2003.
- Bellotti G, Bocchi E, de Moraes AV, Higuchi ML, Barbero-Marcial M, Sosa E, Esteves-Filho A, Kalil R, Weiss R, Jatene A, Pileggi F. In vivo detection of *T. cruzi* antigens in hearts of patients with chronic Chagas' heart disease. *Am Heart J* 131:301–307; 1996.
- Beloscar J, Perez AR, Revelli S. En: *Aportes al conocimiento de la Enfermedad de Chagas*. 1ª Edición. Capítulo 3. ISBN13. Editorial Corpus. Santa Fe, Argentina.: 2013.
- Beloscar J, Rosillo I, Lioi S, Pituelli N, Corbera M, Turco M, Gonzalo V, Maccagno V, Pezzotto S, Robiolo A. Argentina, situación general y tendencias; 1998. Disponible en la URL www.paho.org/spanish/SHA/prflarg.htm
- Ben Younes-Chennoufi A, Hontebeyrie-Joskowicz M, Tricottet V, Eisen H, Reynes M, Said G. Persistence of *Trypanosoma cruzi* antigens in the inflammatory lesions of chronically infected mice. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 82:77–83; 1988.
- Bennett PB, Yazawa K, Makita N & George AL. Molecular mechanism for an inherited cardiac arrhythmia. *Nature* 376, 683–685; 1995.
- Bern C, Verastegui M, Gilman RH, et al. Congenital *Trypanosoma cruzi* transmission in Santa Cruz, Bolivia. *Clin Infect Dis* 49: 1667–74; 2009.
- Bestetti RB, Muccillo G. Clinical course of Chagas' heart disease: a comparison with dilated cardiomyopathy. *Int J Cardiol*.60:187-93; 1997.
- Bezanilla F, Armstrong CM. Inactivation of the sodium channel. I. Sodium current experiments. *J of Gen Physiol*.70:549–566; 1977.
- Bezzina CR, Rook MB, Groenewegen WA, Herfst LJ, van der Wal AC, Lam J, Jongsma HJ, Wilde AAM, Mannens MMAM. Compound heterozygosity for mutations (W156X and R225W) in *SCN5A* associated with severe cardiac conduction disturbances and degenerative changes in the conduction system, *Circ Res* 7: 159–168; 2003.
- Bienengraeber M, Olson TM, Selivanov VA, Kathmann EC, O'Coilain F, Gao F, Karger AB, Ballew JD, Hodgson DM, Zingman LV, Pang YP, Alekseev AE, Terzic A. *ABCC9* mutations identified in human dilated cardiomyopathy disrupt catalytic KATP channel gating. *Nat Gen* 36:382–387; 2004.
- Bink-Boelkens MTE, Bezzina CR, Viswanathan PC, Beaufort-Krol GCM, van Tintelen PJ, van den Berg MP, Wilde AAM, Balsler JR. A sodium-channel mutation causes isolated cardiac conduction disease. *Nature* 409: 1043–1047; 2001.
- Bittencourt AL. Congenital Chagas' disease. *Am J Dis Child* 130: 97-103; 1976.
- Bittencourt AL, Sadigursky M, Barbosa HS. Congenital Chagas' disease. Study of 29 cases. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 17: 146–59; 1975.
- Bonney KM, Engman DM. Chagas heart disease pathogenesis: one mechanism or many? *Curr Mol Med* .8: 510–18; 2008.
- Bonney KM, Luthringer DJ, Kim SA, Garg NJ, Engman DM. Pathology and Pathogenesis of Chagas Heart Disease. *Annu Rev Pathol*.020117-043711; 2018.

- Borda ES & Sterin-Borda L. Antiadrenergic and mucarinic receptor antibodies in Chagas' cardiomyopathy. *Internat J Cardiol* 54: 149-156; 1996.
- Bouza AA, Isom LL. Voltage-Gated Sodium Channel β Subunits and Their Related Diseases. *Hand Exp Pharmacol*.246: 423-450; 2018.
- Brackenbury WJ, Isom LL. Na Channel β Subunits: Overachievers of the Ion Channel Family. *Front Pharmacol* 2:53; 2011.
- Braga JCV, Reis F, Aras R. Clinical and therapeutics aspects of heart failure due to Chagas disease. *Arq Bras Cardiol*. 86: 297–302; 2006 (in Portuguese).
- Brasil M. Consenso brasileiro em doença de Chagas. *Rev Soc Bras Med Trop* 30:12–14; 2005.
- Brener Z, Wendel S, Brener Z, Camargo ME, Rassi A (eds). Chagas disease (American trypanosomiasis): its impact on transfusion and clinical medicine. São Paulo. *Soc Bras Hematol e Hemoter* 25: 13-29; 1992.
- Brücher BL, Stein HJ, Bartels H, Feussner H, Siewert JR. Achalasia and esophageal cancer: incidence, prevalence, and prognosis. *World J Surg* 25:745–749; 2001.
- Brugada P, Brugada J. Right bundle branch block, persistent ST segment elevation and sudden cardiac death: a distinct clinical and electrocardiographic syndrome. A multicenter report. *J Am Coll Cardiol*. 20:1391-6; 1992.
- Brugada R. Bases genéticas de las arritmias. *Rev Esp Cardiol* 51: 274- 285; 1998.
- Bua J, Volta BJ, Velazquez EB, Ruiz AM, Rissio AMD, Cardoni RL. Vertical transmission of *Trypanosoma cruzi* infection: quantification of parasite burden in mothers and their children by parasite DNA amplification. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 106: 623–28; 2012.
- Burgos JM, Diez M, Vigliano C, Bisio M, Rizzo M, Duffy T, Cura C, Brusses B, Favalaro L, Leguizamon MS, Lucero RH, Laguens R, Levin MJ, Favalaro R, Schijman AG. Molecular identification of *Trypanosoma cruzi* discrete typing units in end-stage chronic Chagas heart disease and reactivation after heart transplantation. *Clinic Infec Dis* 51: 485-495; 2010.
- Buscaglia CA, Di Noia JM. *Trypanosoma cruzi* clonal diversity and the epidemiology of Chagas disease. *Microbes Infect* 5: 419-427; 2003.
- Bustamante JM, Novarese M, Rivarola HW, Lo Presti MS, Fernández AR, Enders JE. Reinfections and *Trypanosoma cruzi* strains can determine the variability and the prognosis of the chronic Chagas disease. *Parasitol Res*.100:1407–10; 2007.
- Caeiro TF, Madoery RJ & Salomone OA. Risk progression to chronic Chagas cardiomyopathy: influence of male sex and of parasitaemia detected by polymerase chain reaction. *Heart*. 89: 1186-1190; 2003.
- Capes DL, Goldschen-Ohm MP, Arcisio-Miranda M, Bezanilla F and Chandaet B. Domain IV voltage-sensor movement is both sufficient and rate limiting for fast inactivation in sodium channels. *J of Gen Physiol*. 142:101–112; 2013.
- Cardinal MV, Lauricella MA, Ceballos LA, Lanati L, Marcet PL, Levin MJ, Kitron U, Gürtler RE and Schijman AG. Molecular epidemiology of domestic and sylvatic *Trypanosoma cruzi* infection in rural northwestern Argentina. *Int J Parasitol*. 38: 1533–1543; 2008.
- Cardoso RN, Macedo FYB, Garcia MN, et al. Chagas cardiomyopathy is associated with higher incidence of stroke: a meta-analysis of observational studies. *J Card Fail* 20: 931–38; 2014.

- Carlier Y. Factors and mechanisms involved in the transmission and development of congenital infection with *Trypanosoma cruzi* Rev Soc Bras Med Trop. 38:105-7; 2005.
- Carmo M, Nunes P, Enrico A, Colosimo M, Rocha OC. Left Atrial Volume Provides Independent Prognostic Value in Patients With Chagas Cardiomyopathy. J Am Soc of Echocardiogr. 22:182-88; 2009.
- Carmo M, Pereira Nunes MD, Wistremundo Dones MD, Morillo CA, Encina JJ, Ribeiro AL. Chagas Disease. An Overview of Clinical and Epidemiological Aspects. Journal of the Am Col Cardiol. 62; 2013.
- Carrasco H, Palacios E, Scorza C, Molina C, Inglessis G, Mendoza R. Clinical, histochemical and ultrastructural correlations in septal endomyocardial biopsies from chronic chagasic patients. Am Heart J. 113: 716–724; 1987.
- Catterall WA. Voltage-gated sodium channels at 60: structure, function and pathophysiology. J Physiol 590:2577-2589; 2012.
- Chen L, Zhang W, Fang C, Jiang S, Shu C, Cheng H, Li F, Li H. Polymorphism H558R in the human cardiac sodium channel SCN5A gene is associated with atrial fibrillation. J Int Med Res 39:1908-1916; 2011.
- Chen Q, Kirsch GE, Zhang D, Brugada R, Brugada J, Brugada P. Genetic basis and molecular mechanisms for idiopathic ventricular fibrillation. Nature. 392:29-36; 1998.
- Chernova A, YU, Nikulina S. Relationship between rs1805124 polymorphism of SCN5A gene and primary left bundle branch block. Cardiovasc Res 103:104; 2014.
- Clancy CE, Tateyama M, Liu H, Wehrens XH, Kass RS. Non-equilibrium gating in cardiac Na⁺ channels: an original mechanism of arrhythmia. Circulation. 107:2233–2237; 2003.
- ClinVar <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar>
- Combellas I, Puigbó JJ, Acquatella H, Tortoledo F, Gomez JR. Echocardiographic features of impaired left ventricular diastolic function in Chagas heart disease. Br Heart J. 53: 298 –309; 1985.
- Consenso de Enfermedad de Chagas-Mazza. Rev Arg Cardiol 79:544-564; 2011.
- Conte G, Schotten U, Auricchio A. The Atrial Phenotype of the Inherited Primary Arrhythmia Syndromes. Arrhythm Electrophysiol Rev. 8: 42-46; 2019.
- Cormier JW, Rivolta I, Tateyama M, Yang AS, Kass RS. Secondary structure of the human cardiac Na⁺ channel C terminus – evidence for a role of helical structures in modulation of channel inactivation. J Biol Chem. 277: 9233–9241; 2002.
- Coronel R, Casini S, Koopmann TT, Wilms-Schopman FJG, Verkerk AO, de Groot JR, et al. Right ventricular fibrosis and conduction delay in a patient with clinical signs of Brugada syndrome: a combined electrophysiological, genetic, histopathologic, and computational study. Circulation 112: 2769–77; 2005.
- Coura JR Chagas disease: what is known and what is needed - A background article. Mem Inst Oswaldo Cruz. 102: 113-22; 2007.
- Coura JR, de Abreu LL, Pereira JB, Willcox HP. Morbidity in Chagas' disease. IV. Longitudinal study of 10 years in Pains and Iguatama, Minas Gerais, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 80: 73–80; 1985.

- Coura JR, Vinas PA, Brum-Soares LM, de Sousa AS, Xavier SS. Morbidity of Chagas heart disease in the microregion of Rio Negro, Amazonian Brazil: a case-control study. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 108:1009- 13; 2013.
- Coura JR. Chagas disease: what is known and what is needed. A background article. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 102: 113-122; 2007.
- Covarrubias C, Cortez M, Ferreira D, Yoshida N. Interaction with host factors exacerbates *Trypanosoma cruzi* cell invasion capacity upon oral infection. *Int J Parasitol.* 37:1609–1616; 2007.
- Crinion D, Baranchuk A. Brugada electrocardiogram pattern and right bundle branch block. *Europace.* 2019
- Cubillos-Garzón LA, Casas JP, Morillo CA, Bautista LE. Congestive heart failure in Latin America: the next epidemic. *Am Heart J.*147: 412-7; 2004.
- Cunha E, Neto, Chevillard C. Chagas disease cardiomyopathy: immunopathology and genetics. *Mediators Inflamm.*683230; 2014.
- Cunha-Neto E, Bilate AM, Hyland KV, Fonseca SG, Kalil J, Engman DM. Induction of cardiac autoimmunity in Chagas heart disease: a case for molecular mimicry. *Autoimmunity* 39: 41–54. 2006.
- Cunha-Neto E, Chevillard C. Chagas disease cardiomyopathy: immunopathology and genetics. *Mediat Inflamm.* 683230. 2014.
- Cunha-Neto E, Dzau VJ, Allen PD, Stamatiou D, Benvenuti L, Higuchi ML, Koyama NS, Silva JS, Kalil J & Liew CC. Cardiac gene expression profiling provides evidence for cytokinopathy as a molecular mechanism in Chagas' disease cardiomyopathy. *Am J Pathol* 167: 305-313; 2005.
- Cunha-Neto E, Iwai LK, Bilate AMB, Fonseca SG, Kalil J. Autoimmunity in Chagas' Disease. En: Shoenfeld Y, Rose NR, eds., *Infection and Autoimmunity.* Amsterdam, The Netherlands, Elsevier, 449–472. 2004.
- Cunha-Neto E, Nogueira LG, Teixeira PC, Ramasawmy R, Drigo SA, Goldberg AC, Fonseca SG, Bilate AM & Kalil J. Immunological and non-immunological effects of cytokines and chemokines in the pathogenesis of chronic Chagas disease cardiomyopathy. *Mem do Inst Oswaldo Cruz.* 104: 252-258; 2009.
- Cura CI, Lucero RH, Bisio M, Oshiro E, Formichelli LB, Burgos JM, , Lejona S, Brusés BL, Hernández DO, Severini GV, Velazquez E, Duffy T, Anchart E, Lattes R, Jaltchek A, Freilij H, Diez M, Nagel C, Vigliano C, Favaloro L, Favaloro RR, Merino DE, Sosa-estani S and Schijman AG. *Trypanosoma cruzi* discrete typing units in chagas disease patients from endemic and non-endemic regions of Argentina. *Parasitology.* 139:516–521; 2012.
- da Silva MA, Costa JM, Barbosa JM, Cabral F, Fragata Filho AA, Correa EB, Borges Filho R, Sousa JE. Chronic phase of Chagas disease. Clinical aspects and course of the disease. *Arq Bras Cardiol.* 63: 281-5; 1994.
- Davila DF, Donis JH, Torres A & Ferrer JA. A modified and unifying neurogenic hypothesis can explain the natural history of chronic Chagas heart disease. *Internat J of Cardiol.* 96: 191-195; 2004.
- Davila DF, Donis JH, Torres A, Gottberg CF & Rossell O. Cardiac parasympathetic innervation in Chagas' heart disease. *Med Hypotheses.* 35: 80-84; 1991.

- Davila Spinetti DF, Inglessis G & Mazzei de Davila CA. Chagas cardiomyopathy and the autonomic nervous system. Clinical studies. Arch del Inst de Cardiol de México. 69: 35-39; 1999.
- de Carvalho AC, Masuda MO, Tanowitz HB, Wittner M, Goldenberg RC, Spray DC. Conduction defects and arrhythmias in Chagas' disease: possible role of gap junctions and humoral mechanisms. J Cardiovasc Electrophysiol. 5: 686-98; 1994.
- de Noya BA, Gonzalez ON. An ecological overview on the factors that drives to *Trypanosoma cruzi* oral transmission. Acta Trop151: 94–102; 2015.
- de Oliveira RB, Troncon LE, Dantas RO, Menghelli UG. Gastrointestinal manifestations of Chagas' disease. Am J Gastroenterol. 93:884– 889; 1998.
- DeMarco KR, Clancy CE. Cardiac Na Channels: Structure to Function. Curr Top membr. 78: 287- 311; 2016.
- Dias JC, Kloetzel K. The prognostic value of the electrocardiographic features of chronic Chagas' disease. Rev Instit Med Trop Sao Paulo.10: 158-62; 1968.
- Dias JC, Ramos Jr AN, Gontijo ED, Luquetti A, Shikanai-Yasuda MA, Coura JR, Torres RM, Melo JR, Almeida EA, Oliveira W Jr, Silveira AC, Rezende JM, Pinto FS, Ferreira AW, Rassi A, Fragata AA Filho, Sousa AS, Correia D, Jansen AM, Andrade GM, Britto CF, Pinto AY, Rassi A Jr, Campos DE, Abad-Franch F, Santos SE, Chiari E, Hasslocher-Moreno AM, Moreira EF, Marques DS, Silva EL, Marin-Neto JA, Galvão LM, Xavier SS, Valente SA, Carvalho NB, Cardoso AV, Silva RA, Costa VM, Vivaldini SM, Oliveira SM, Valente VD, Lima MM, Alves RV. 2nd Brazilian Consensus on Chagas Disease. Rev Soc Bras Med Trop. 49: 3-60; 2015.
- Dias JC. The indeterminate form of human chronic Chagas' disease: a clinical epidemiological review. Rev Soc Bras Med Trop. 22: 147- 56; 1989.
- Dias JCP, Macedo VO. Doença de Chagas. Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 557-594; 2005.
- Diosque P, Barnabé C, Padilla A, Marco J, Cardozo R, Cimino R, Nasserd J, Tibayrenc M, Basombrío M. Multilocus enzyme electrophoresis analysis of *Trypanosoma cruzi* isolates from a geographically restricted endemic area for Chagas' disease in Argentina. Int. J. Parasitol. 33:997–1003; 2003.
- Dong Y, Huang Y, Wu HL, Ke J, Yin YL, Zhu C, Li B, Li J, Gao L, Xue Q, Zhang JC, Li Y. Change in late sodium current of atrial myocytes in spontaneously hypertensive rats with allocryptopine treatment. Cardiovasc J Afr. 30:1-8; 2019.
- Dutra WO, Menezes CAS, Magalhaes LMD, Gollob KJ. Immunoregulatory networks in human Chagas disease. Parasite Immunol. 36: 377–87; 2014.
- Dutra WO, Silva Menezes CA, Amaral Villani FN, Carneiro da Costa G, Morais da Silveira AB, d'Ávila Reis D, Gollob KJ. Cellular and genetic mechanisms involved in the generation of protective and pathogenic immune responses in human Chagas disease. Mem Inst Oswaldo Cruz.104: 208-18; 2009.
- Eaholtz G, Colvin A, Leonard D, Taylor C, and Catterall WA. Block of brain sodium channels by peptide mimetics of the isoleucine, phenylalanine, and methionine (IFM) motif from the inactivation gate. J Gen Physiol 113: 279–294; 1999.
- Eaholtz G, Scheuer T, Catterall WA. Restoration of inactivation and block of open sodium channels by an inactivation gate peptide. Neuron. 12: 1041–1048; 1994.

- Eaholtz G, Zagotta WN, Catterall WA. Kinetic analysis of block of open sodium channels by a peptide containing the isoleucine, phenylalanine, and methionine (IFM) motif from the inactivation gate. *J Gen Physiol* 111:75–82; 1998.
- Enriquez GF, Cardinal MV, Orozco MM, Lanati L, Schijman AG, Gürtler RE. Discrete typing units of *Trypanosoma cruzi* identified in rural dogs and cats in the humid Argentinean Chaco. *Parasitology* 140: 303-308; 2012.
- Espinosa R, Carrasco HA, Belandria F, Abdel M, Fuenmayor C, Molina R, González OM. Life expectancy analysis in patients with Chagas' disease: prognosis after one decade (1973–1983). *Int J Cardiol.* 8: 45–56; 1985.
- Factor SM, Cho S, Wittner M, Tanowitz H. Abnormalities of the coronary microcirculation in acute murine Chagas' disease. *Am J Trop Med Hyg.*34: 246–253; 1985.
- Fahmi AI, Patel M, Stevens EB, Fowden AL, John JE 3rd, Lee K, Pinnock R, Morgan K, Jackson AP, Vandenberg JI. The sodium channel beta-subunit SCN3b modulates the kinetics of SCN5a and is expressed heterogeneously in sheep heart. *Jf Physiol.* 537: 693–700; 2001.
- Ferreira Bellini M, Silistino-Souza R, Varella-Garcia M, Tercilia Vilela de Azeredo-Oliveira M, Silva AE. Biologic and Genetics Aspects of Chagas Disease at Endemic Áreas. *J Trop Med.* 11; 2012.
- Frade AF, Pissetti CW, Ianni BM, Saba B, Lin-Wang HT, Nogueira LG, de Melo Borges A, Buck P, Dias F, Baron M, Ferreira LR, Schmidt A, Marin- Neto JA, Hirata M, Sampaio M, Fragata A, Pereira AC, Donadi E, Kalil J, Rodrigues V, Cunha-Neto E, Chevillard C. Genetic susceptibility to Chagas disease cardiomyopathy: involvement of several genes of the innate immunity and chemokine-dependent migration pathways. *BMC Infect Dis.* 13: 587; 2013.
- Franco MF. Experimental carditis induced by *Trypanosoma cruzi* (y strain) in guinea pigs: correlation between histopathology and the presence of *T cruzi* antigens identified by indirect immunofluorescence. *Rev Soc Bras Med Trop.* 23:187-189; 1990.
- Frustaci A, Priori SG, Pieroni M, Chimenti C, Napolitano C, Rivolta I, Sanna T, Bellocci F, Russo MA. Cardiac histological substrate in patients with clinical phenotype of Brugada syndrome. *Circulation.* 112: 3680–3687; 2005.
- García-Castroa M, Garcíaa C, Reguerob JR, Miara A, Rubínb JM, Álvarez V, Morísb C y Cotoa E. Espectro mutacional del gen SCN5A en pacientes españoles con síndrome de Brugada. *Rev Esp Cardiol.* 63: 856-9; 2010.
- Ge HY, Li XM, Jiang H, Li MT, Zhang Y, Liu HJ. Clinical characteristics and treatment of congenital long QT syndrome in 58 children. *Zhonghua Er Ke Za Zhi.* 57:272-276; 2019.
- Ge J, Sun A, Paajanen V, Wang S, Su C, Yang Z, Li Y, Wang S, Jia J, Wang K, Zou Y, Gao L, Wang K & Fan Z . Molecular and clinical characterization of a novel *SCN5A* mutation associated with atrioventricular block and dilated cardiomyopathy. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 1: 83–92; 2008.
- Genomes Project Consortium, Auton A, Brooks LD, Durbin RM, Garrison EP, Kang HM, Korbel JO, Marchini JL, McCarthy S, McVean GA, Abecasis GR. A global reference for human genetic variation. *Nature.* 526: 68-74; 2015.

- George AL. Inherited disorders of voltage-gated sodium channels. *J Clin Invest* 115:1990-1999; 2005.
- Gimenez LJ, Mitelman JE. Construction of a new clinical and therapeutic setting for patients in chronic chagasic period without demonstrable pathology. *Rev Fed Arg Cardiol.* 45; 56-59; 2016.
- Girones N, Cuervo H & Fresno M. Trypanosoma cruzi-induced molecular mimicry and Chagas' disease. *Cur Topics Microbiol and Immunol.* 296: 89-123; 2005.
- Goin J, Leiros C, Borda E & Sterin-Borda L. Interaction of human chagasic IgG with the second extracellular loop of the human heart muscarinic acetylcholine receptor: functional and pathological implications. *The FASEB J.* 11: 77-83; 1997.
- Goldin AL. Mechanisms of sodium channel inactivation. *Cur Op in Neurobiol* 13: 284–290; 2003.
- Goldschen-Ohm MP, Capes DL, Oelstrom KM & Chanda B. Multiple pore conformations driven by asynchronous movements of voltage sensors in a eukaryotic sodium channel. *Nature Comm.* 4:1350; 2013.
- Gomes ML, Macedo AM, Pena SDJ, Chiari E. Genetic relationships between *Trypanosoma cruzi* strains isolated from chronic chagasic patients in southern Brazil as revealed by RAPD and SSR-PCR analysis. *Acta Tropica.* 69: 99-109; 1998.
- González J, Guerri-Guttenberg R, Grana D, Azzato F and Milei J. Pathogenesis and Pathology of Chagas' Chronic Myocarditis. In *Myocarditis*. Ed Cihakova D. InTech. 2011.
- Gouas L, Nicaud V, Berthet M, Forhan A, Tired L, Balkau B, Guicheney P, D.E.S.I.R. Association of KCNQ1, KCNE1, KCNH2 and SCN5A polymorphisms with QTc interval length in a healthy population Study Group. *Europ J of Hum Gen* 13: 1213–1222; 2015.
- Graham RM, Owens WA. Pathogenesis of inherited forms of dilated cardiomyopathy. *N Engl J Med.* 341:1759 –1762; 1999.
- Grant AO, Carboni MP, Neplioueva V, Starmer CF, Memmi M, Napolitano C, and Priori S. Long QT syndrome, Brugada syndrome, and conduction system disease are linked to a single sodium channel mutation *J of Clinic Invest.* 110:1201–1209; 2002.
- Groenewegen WA, Firouzi M, Bezzina CR, Vliex S, van Langen IM, Sandkuijl L, Smits JPP, Hulsbeek M, Rook MR, Jongsma HJ, Wilde AAM. A cardiac sodium channel mutation cosegregates with a rare connexin 40 genotype in familial atrial standstill, *Circ. Res.* 10: 14–22; 2003.
- Guedes PM, Urbina JA, de Lana M, Afonso LCC, Veloso VM, Tafuri WL, Machado-Coelho GLL, Chiari E, Bahia MT. *Antimicrob Agents Chemother* 48: 4286–4292; 2004.
- Hanck DA, Sheets MF. Site-3 toxins and cardiac sodium channels. *Toxicon.* 49: 181–193; 2007.
- Henao-Martínez AF, Schwartz DA, V. Yang I. Chagasic cardiomyopathy, from acute to chronic: is this mediated by host susceptibility factors? *Transac of the Royal Soc of Trop Med and Hyg* 106: 521– 527; 2012.

- Hershberger RE, Hedges DJ, Morales A. Dilated cardiomyopathy: the complexity of a diverse genetic architecture, *Nat. Rev. Cardiol.* 10: 531–547; 2013.
- Higuchi M de L, De Brito T, Martins Reis M, Barbosa A, Bellotti G, Pereira-Barreto AC, Pileggi F. Correlation between *Trypanosoma cruzi* parasitism and myocardial inflammatory infiltrate in human chronic chagasic myocarditis: light microscopy and immunohistochemical findings. *Cardiovasc Pathol.* 2:101–106; 1993.
- Higuchi ML, Brito T, Reis MM, Barbosa A, Bellotti G, Pereira-Barreto AC, Pileggi F. Correlation between *T. cruzi* parasitism and myocardial inflammation in human chronic chagasic myocarditis: light microscopy and immunohistochemical findings. *Cardiovasc Pathol.* 2:101-106; 1993.
- Howard EJ, Xiong X, Carlier Y, Sosa-Estani S, Buekens P. Frequency of the congenital transmission of *Trypanosoma cruzi*: a systematic review and meta-analysis. *BJOG* 121: 22–33; 2014.
- Hu D, Viskin S, Oliva A, Carrier T, Cordeiro JM, Barajas-Martinez H, Wu Y, Burashnikov E, Sicouri S, Brugada R, Rosso R, Guerchicoff A, Pollevick GD, Antzelevitch C. Novel mutation in the SCN5A gene associated with arrhythmic storm development during acute myocardial infarction. *Heart Rhythm* 4:1072–1080; 2007.
- Huang H, Chan J, Wittner M, Jelicks L A, Morris SA, Factor S M, Weiss LM, Braunstein VL, Bacchi C J, Yarlett N, Chandra M, Shirani J & Tanowitz HB. Expression of Cardiac Cytokines and Inducible Form of Nitric Oxide Synthase (NOS2) in *Trypanosoma cruzi*-infected Mice. *J of Mol and Cel Cardiol* 31: 75-88; 1999.
- Huxley HE, Kendrew JC. Extractability of the Lotmar-Picken material from dried muscle. *Nature.* 170: 882; 1952.
- Ianni BM, Arteaga E, Frimm CC, Pereira Barretto AC, Mady C. Chagas' heart disease: evolutive evaluation of electrocardiographic and echocardiographic parameters in patients with the indeterminate form. *Arq Bras Cardiol.* 77: 59-62; 2001.
- Ianni BM, Mady C. The sugarcane juice was delicious, but. *Arq Bras Cardiol.* 85: 379–81; 2005.
- Ihle-Soto C, Costoya E, Correa JP, Bacigalupo A, Cornejo-Villar B, Estadella V, Solari A, Ortiz S, Hernandez HJ, Botto-Mahan C, Gorla DE, Cattani PE. *Trypanosoma cruzi* infection and discrete typing units infecting hosts and vectors from non-domestic foci of Chile. *PLOS Negl Trop Dis.* 13: e0207170; 2019.
- Isom LL. Sodium channel beta subunits: anything but auxiliary *Neuroscientist.* 7: 42-54; 2001.
- Iwasa H, Itoh T, Nagai R, Nakamura Y, and Tanaka T. Twenty single nucleotide polymorphisms (SNPs) and their allelic frequencies in four genes that are responsible for familial long QT syndrome in the Japanese population. *J. Hum. Genet* 45:182–183; 2000.
- Jabbari R, Glinge C, Jabbari J, Abbari R, Glinge C, Jabbari J, Risgaard B, Winkel B G, Terkelsen CJ, Tilsted H, Jensen LO, Hauns S, Engstrom T, Albert CM, Tfelt-

- Hansen J. A common variant in SCN5A and the risk of ventricular fibrillation caused by first ST-segment elevation myocardial infarction. *12:0170193*; 2017.
- Jaiswal JK, Andrews NW, Simon SM. Membrane proximal lysosomes are the major vesicles responsible for calcium-dependent exocytosis in nonsecretory cells. *J Cell Biol.* 159: 625-35; 2002.
 - Jiang S, Li FL, Dong Q, Liu HW, Fang CF, Shu C, Cheng H, Cui J, Ma HX, Chen DQ, Li H. H558R polymorphism in SCN5A is associated with Keshan disease and QRS prolongation in Keshan disease patients. *Genet Mol Res* 13: 6569–76; 2014.
 - Jones EM, Colley DG, Tostes S, Lopes ER, Vnencak-Jones CL, McCurley TL. Amplification of *Trypanosoma cruzi* DNA sequence from inflammatory lesions in human chagasic cardiomyopathy. *Am Trop Med Hyg.* 48: 348-357; 1993.
 - Jones EM, Colley DG, Tostes S, Reis Lopez E, Vnencak-Jones CL & McCurley TL. Amplification of *Trypanosoma cruzi* DNA sequence from inflammatory lesions in human chagasic cardiomyopathy. *Am J of Trop Med and Hyg.* 48: 348-357; 1993.
 - Junbo Ge, MD, Aijun Sun, MD, PhD; Vesa Paajanen, PhD; Shijun Wang, MD, Chunxi Su, MD, Zhiyin Yang, MD; Ying Li, MD, PhD; Shaochun Wang, MD; Jianguo Jia, MD; Keqiang Wang, MD, PhD; Yunzeng Zou, MD; Lizhi Gao, MD; Kun Wang, MD; Zheng Fan, PhD. Molecular and Clinical Characterization of a Novel SCN5A Mutation Associated With Atrioventricular Block and Dilated Cardiomyopathy. *Circ Arrhythmia Electrophysiol* 2018.
 - Kalil J, Cunha-Neto E. Autoimmunity in Chagas' cardiomyopathy: fulfilling the criteria at last. *Parasitol Today.* 12: 396-399; 1996.
 - Kass RS. Sodium channel inactivation goes with the flow. *J of Gen Physiol.* 124:7–8; 2004.
 - Kellenberger S, West JW, Catterall WA, and Scheuer T. Molecular analysis of potential hinge residues in the inactivation gate of brain type IIA Na⁺ channels. *J of Gen Physiol* 109: 607–617; 1997.
 - Kierszenbaum F. Chagas disease and the autoimmunity hypothesis. *Clin Microbio Rev.*12: 2210-2223; 1999.
 - Kierszenbaum F. Mechanisms of pathogenesis in Chagas disease. *Acta Parasitol.* 52: 1-12; 2007.
 - Kierszenbaum F. Where do we stand on the autoimmunity hypothesis of Chagas disease? *Trends Parasitol.* 21:513-516; 2005.
 - Kimura A. Contribution of genetic factors to the pathogenesis of dilated cardiopathy—the cause of dilated cardiomyopathy: acquired or genetic? (genetic side), *Circ. J.* 75: 1766–1773; 2011.
 - Köberle F. Cardiopathia parasymphaticopriva. *Münch Med Wochenschr.*101: 1308-1310; 1959.
 - Köberle F. Chagas' disease and Chagas' syndromes: the pathology of American trypanosomiasis. *Adv Parasitol.* 6: 63–116; 1968.
 - Kuo CC, Bean BP. Na⁺ channels must deactivate to recover from inactivation. *Neuron.* 12: 819–829; 1994.
 - La enfermedad de Chagas (trypanosomiasis americana), datos y cifras. World Health Organization; 2019.

- Lachaud L, Chabbert E, Dubessay P, Reynes J, Lamothe j, and Bastien P. Comparison of various sample preparation methods for PCR diagnosis of visceral Leishmaniasis using peripheral blood. *J Clin Microb* 39: 613-617; 2001.
- Lages-Silva E, Ramírez LE, Pedrosa AL, Crema E, da Cunha Galvão LM, Junho Pena SD, Macedo AM, Chiari E. Variability of kinetoplast DNA gene signatures of *Trypanosoma cruzi* II strains from patients with different clinical forms of Chagas' disease in Brazil. *J of Clinic Microbiol* 44: 2167-2171; 2006.
- Laranja FS, Dias E, Nobrega G, Miranda A. Chagas' disease. A clinical, epidemiologic, and pathologic study. *Circulation*.14: 1035–60; 1956.
- Lassen O, Dotto G, Ojeda S, Garutti A, Bertolotto P, Tabares S, Gallerano R, Sembaj A. Cardiac condition in young chagasic women. *J Med Life* 6:185-188; 2013.
- Lei M, Huang CL & Zhang Y. Genetic Na⁺ channelopathies and sinus node dysfunction. *Prog Biophys Mol Biol* 98: 171–178; 2008.
- Levin MJ. In chronic Chagas heart disease, don't forget the parasite. *Parasitol Today*. 12: 415-416; 1996.
- Libby P, Alroy J & Pereira ME. A neuraminidase from *Trypanosoma cruzi* removes sialic acid from the surface of mammalian myocardial and endothelial cells. *J of Clinic Invest* 77: 127-135; 1986.
- Lima-Costa MF, Matos DL, Ribeiro AL. Chagas disease predicts 10-year stroke mortality in community-dwelling elderly: the Bambui cohort study of aging. *Stroke*.41: 2477-82; 2010.
- LiuY, Jurman ME, Yellen G. Dynamic rearrangement of the outer mouth of a K⁺ channel during gating. *Neuron*. 16: 859–867; 1996.
- Lo Presti MS, Rivarola HW, Fernández AR, Enders JE, Levin G, Fretes R, Cerban FM, Garrido VV, Paglini-Oliva P. Involvement of the b-adrenergic system in the cardiac chronic form of experimental *Trypanosoma cruzi* infection. *Parasitology*. 136: 905-18; 2009.
- Lopes ER, Chapadeiro E. Anatomia patológica da doença de Chagas. En: Dias JCP, Coura JR. *Clínica e Terapêutica da doença de Chagas*, Fiocruz, Rio de Janeiro. 67-84; 1997.
- Luquetti A, Rassi A. Diagnóstico laboratorial da infecção por *Trypanossoma cruzi*. In: Brener Z, Andrade Z, Barral-Netto E, eds. *Trypanossoma cruzi e Doença de Chagas*. 2nd ed. Rio de Janeiro, Brazil: Guanabara Koogan. 344–378; 2000.
- Luquetti AO, Tavares SBDN, Siriano LDR, Amaral de Oliveira R, Campos DE, Alves de Morais C, and Chaves de Oliveira E. Congenital transmission of *Trypanosoma cruzi* in central Brazil. A study of 1,211 individuals born to infected mothers *Mem Inst Oswaldo Cruz* 110: 369–76; 2015.
- Macedo AM, Machado CR, Oliveira RP, Pena SDJ. *Trypanosoma cruzi*: genetic structure of populations and relevance of genetic variability to the pathogenesis of Chagas disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz* .99: 1-12; 2004.
- Macedo AM, Pimenta JR, Aguiar RS, Melo A., Chiari E, Zingales B, Pena SD, Oliveira RP. Usefulness of microsatellite typing in population genetic studies of *Trypanosoma cruzi*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. 96:407–413; 2001.

- Machado CR, Caliarí MV, de Lana M, Tafuri WL. Heart autonomic innervations during the acute phase of experimental American trypanosomiasis in the dog. *Am J Trop Med Hyg.* 59: 492– 496; 1998.
- Machado FS, Dutra WO, Esper L, Gollob KJ, Teixeira MM, Factor SM, Weiss LM, Nagajyothi F, Tanowitz HB, Garg NJ. Current understanding of immunity to *Trypanosoma cruzi* infection and pathogenesis of Chagas disease. *Semin Immunopathol.* 34: 753–70; 2012.
- Machado-de-Assis GF, Diniz GA, Montoya RA, Pinto Dias JC, Rodrigues Coura J, Lins Machado-Coelho JL, Albajar-Viñas P, Morais Torres R, and de Lana M .A serological, parasitological and clinical evaluation of untreated Chagas disease patients and those treated with benznidazole before and thirteen years after intervention. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 108: 873–80; 2013.
- Madoery R. Actualizaciones en la Enfermedad de Chagas. Editores: R Madoery, M I Cámara 1993.
- Maguire JH, Hoff R, Sherlock I, Guimaraes AC, Sleigh AC, Ramos NB, Mott KE, Weller TH. Cardiac morbidity and mortality due to Chagas' disease: prospective electrocardiographic study of a Brazilian community. *Circulation.* 75: 1140-5; 1987.
- Maguire JH, Mott KE, Lehman JS, Hoff R, Muniz TM, Guimaraes AC, et al. Relationship of electrocardiographic abnormalities and seropositivity to *Trypanosoma cruzi* within a rural community in northeast Brazil. *Am Heart J.* 105: 287-94; 1983.
- Makielski JC, Limberis JT, Chang SY, et al. Coexpression of β 1 with cardiac sodium channel alpha subunits in oocytes decreases lidocaine block. *Mol Pharmacol.* 49:30-39; 1996.
- Makielski JC, Ye B, Valdivia CR, Pagel MD, Pu J, Tester DJ, Ackerman MJ. A ubiquitous splice variant and a common polymorphism affect heterologous expression of recombinant human SCN5A heart sodium channels. *Circ Res.* 93:821-8; 2003.
- Makita N, Bennett PB, George AL Jr. Molecular determinants of β 1 subunit-induced gating modulation in voltage-dependent Na^+ channels. *J Neurosci.* 16:7117-7127; 1996.
- Mantegazza M, Yu FH, Catterall WA, and Scheuer T. Role of the C-terminal domain in inactivation of brain and cardiac sodium channels. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 98:15348–15353; 2001.
- Manzullo EC, Darraidou MA, Libonatti O, Rozlosnik J, Bazzano AC. Estudio longitudinal de la cardiopatía chagásica crónica. [Tese]. Centro de Chagas de la Catedra de Enfermedades Infecciosas de la Facultad de Ciencias Medicas de Buenos Aires. Buenos Aires; 1982.
- Marcili A, Lima L, Cavazzana MJR, Junqueira ACV, Veludo HH, Maia da Silva F, Campaner M, Paiva F, Nunes VLB, Teixeira MMG. A new genotype of *Trypanosoma cruzi* associated with bats evidenced by phylogenetic analyses using SSU rDNA, cytochrome b and Histone H2B genes and genotyping based on ITS1 rDNA. *Parasitology* 136: 641-655; 2009.

- Marcolino MS, Palhares DM, Ferreira LR, Ribeiro AL. Electrocardiogram and Chagas disease: a large population database of primary care patients. *Glob Heart*.10: 167-72; 2015.
- Marcsa B, Dénes R, Vörös K, Rác G, Sasvári-Székely M, Rónai Z, Törő K, Keszler G. A Common Polymorphism of the Human Cardiac Sodium Channel Alpha Subunit (SCN5A) Gene Is Associated with Sudden Cardiac Death in Chronic Ischemic Heart Dis 2015.
- Marcus FI, McKenna WJ, Sherrill D, Basso C, Baucé B, Bluemke DA, Calkins H, Corrado D, Cox MG, Daubert JP, Fontaine G, Gear K, Hauer R, Nava A, Picard MH, Protonotarios N, Saffitz JE, Sanborn DM, Steinberg JS, Tandri H, Thiene G, Towbin JA, Tsatsopoulou A, Wichter T, Zareba W. Diagnosis of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia: proposed modification of the task force criteria. *Eur. Heart J*. 31.806–814; 2010.
- Marin-Neto JA, Cunha-Neto E, Maciel BC & Simoes MV. Pathogenesis of Chronic Chagas Heart Disease. *Circulation*.115: 1109-1123; 2007.
- Marin-Neto JA, Marzullo P, Marcassa C, Gallo Jr L, Maciel BC, Bellina CR, L'Abbate A. Myocardial perfusion abnormalities in chronic Chagas' disease as detected by thallium-201 scintigraphy. *Am J Cardiol*.69:780-4; 1992.
- Marin-Neto JA, Rassi A Jr, Maciel BC, Simoes MV, Schmidt A. Chagas heart disease.eds. Evidence-based cardiology. 3rd ed. London: BMJ Books, 823-841; 2010.
- Marin-Neto JA, Simoes MV, Ayres-Neto EM, Attab-Santos JL, Gallo Jr L, Amorim DS, Maciel BC. Studies of the coronary circulation in Chagas' heart disease. *Sao Paulo Med J*. 113: 826-34; 1995.
- Marin-Neto JA, Simões MV, Rassi A Jr. Pathogenesis of chronic Chagas cardiomyopathy: the role of coronary microvascular derangements. *Rev Soc Bras Med Trop*. 46:536–541; 2013.
- Marin-Neto JA, Simoes MV, Sarabanda AV. Forma crônica cardíaca. *Trypanosoma Cruzi e Doença de Chagas*. 2ª ed. São Paulo: Guanabara- Koogan. 266-96; 2000.
- Martin S, Llewellyn A, Rivett-Carnac JB, Fitzpatrick S, Lewis MD, Yeo M, Gaunt MG, Miles MA. Extraordinary *Trypanosoma cruzi* diversity within single mammalian reservoir hosts implies a mechanism of diversifying selection. 2007.
- Matsuda NM, Miller SM, Evora PR. The chronic gastrointestinal manifestations of Chagas disease. *Clinics (Sao Paulo)*. 64:1219–1224; 2009.
- Matsumura H, Nakano Y, Ochi H, Onohara Y, Sairaku A, Tokuyama T, Tomomori S, Motoda C, Amioka M, Hironobe N, Toshishige M, Takahashi S, Imai K, Sueda T, Chayama K, Kihara Y. H558R, a common SCN5A polymorphism, modifies the clinical phenotype of Brugada syndrome by modulating DNA methylation of SCN5A promoters. *J Biomed Sci*. 24:91; 2017
- Mattos EC, Canuto G, Manchola, Magalhães, Crozier TWM, Lamont DJL, Tavares MFM, Colli W, Ferguson MAJ, Alves MJM. Reprogramming of *Trypanosoma cruzi* metabolism triggered by parasite interaction with the host cell extracellular matrix. *PLOS Negl Trop Dis* 1 / 27; 2019.
- McCormick KA, et al. Molecular determinants of Na⁺ channel function in the extracellular domain of the beta1 subunit. *J of Biol Chem*. 273: 3954–3962; 1998.

- McNair WP, Ku L, Taylor MR, Fain PR, Dao D, Wolfel E, Mestroni L. *SCN5A* mutation associated with dilated cardiomyopathy, conduction disorder, and arrhythmia. *Circulation*. 110:2163–2167; 2004.
- McNair WP, Sinagra G, Taylor MR, Di Lenarda A, Ferguson DA, Salcedo EE, Slavov D, Zhu X, Caldwell JH & Mestroni L. Familial Cardiomyopathy Registry Research Group. *SCN5A* mutations associate with arrhythmic dilated cardiomyopathy and commonly localize to the voltage-sensing mechanism. *J Am Coll Cardiol* 57: 2160–2168; 2011.
- McPhee JC, Ragsdale DS, Scheuer T, Catterall WA. A critical role for transmembrane segment IVS6 of the sodium channel alpha subunit in fast inactivation. *J Biol Chem* 270: 12025-12034; 1995.
- McPhee JC. A critical role for the S4–S5 intracellular loop in domain IV of the sodium channel -subunit in fast inactivation. *J of Biol Chem*. 273:1121–1129; 1998.
- Mendoza I, Camardo J, Moleiro F, Castellanos A, Medina V, Gomez J, et al. Sustained ventricular tachycardia in chronic chagasic myocarditis: electrophysiologic and pharmacologic characteristics. *Am J Cardiol*. 57:423-7; 1986.
- Messenger LA, Miles MA, Bern C. Between a bug and a hard place: *Trypanosoma cruzi* genetic diversity and the clinical outcomes of Chagas disease. *Expert Rev Anti Infect Ther*.13: 995–1029; 2015.
- Migliore RA, Guerrero FT, Armenti A, Fernández C, Adaniya ME, Iannariello J, Tamagusuku H, Mouzo G, Baudino C, Posse R. Diastolic function in Chagas disease. *Medicina (B Aires)*.50: 537-542; 1990.
- Milei J, Guerri-Guttenberg RA, Grana DR, Storino R. Prognostic impact of Chagas disease in the United States. *Am Heart J*. 157: 22 -29; 2009.
- Milei J, Pesce R, Valero E, Muratore C, Beigelman R & Ferrans VJ. Electrophysiologic-structural correlations in chagasic aneurysms causing malignant arrhythmias. *Internat J of Cardiol*. 32: 65-73; 1991.
- Miles MA, Feliciangeli MD, de Arias AR. American trypanosomiasis (Chagas' disease) and the role of molecular epidemiology in guiding control strategies. *BMJ*. 326:1444–1448; 2003.
- Mitelman J, Descalzo A, Gimenez L, et al. Consenso de Enfermedad de Chagas-Mazza. *Rev Argent Cardiol* 79: 544-64; 2011.
- Molina HA, Milei J, Rimoldi MT, Gonzalez Cappa SM, Storino RA. Histopathology of the heart conducting system in experimental Chagas disease in mice. *Trans R Soc Trop Med Hyg*.82: 241–246; 1988.
- Montamat EE, De Luca D'Oro GM, Galerano RH, Sosa R, Blanco A. Characterization of *Trypanosoma cruzi* populations by zymodemes: correlation with clinical picture. *Am J Trop Med Hyg* .55: 625–8;1996.
- Monteiro WM, Magalhães LKC, de Sá ARN, Gomes ML, de Ornelas Toledo MJ, Borges L, Pires I, de Oliveira Guerra JA, Silveira H, das Graças Vale Barbosa M. *Trypanosoma cruzi* IV causing outbreaks of acute Chagas disease and infections by different haplotypes in the Western Brazilian Amazonia. *PLoS One*, 7: 41284; 2012.

- Mordini DO. ¿Por qué una “nueva clasificación de la enfermedad de Chagas?”. *Rev Fed Arg Cardiol.* 39: 238-239; 2010.
- Moreno EA, Araujo AA, Alarcón ME, Lugo de Yarbuh A, Araujo S, Borges R. Efectos de la infección Chagásica aguda en ratas Wistar gestantes RCv.16n.5Maracibo. 2006.
- Morgan K, et al. Beta 3: an additional auxiliary subunit of the voltage-sensitive sodium channel that modulates channel gating with distinct kinetics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.*97:2308–2313; 2000.
- Morillo CA, Marin-Neto JA, Avezum A, Sosa-Estani S, Rassi A, Rosas Jr. F, Villena E, Quiroz R, Bonilla R, Britto C, Guhl F, Velazquez E, Bonilla L, Meeks B, Rao-Melacini P, Pogue J, Mattos A, Lazdins J, Rassi A, Connolly SJ, and Yusuf S. Randomized Trial of Benznidazole for Chronic Chagas’ Cardiomyopathy *N Engl J Med.* 373:1295-306; 2015.
- Morris SA, Tanowitz HB, Wittner M, Bilezikian JP. Pathophysiological insights into the cardiomyopathy of Chagas’ disease. *Circulation.*82:1900–1909; 1990.
- Mota E, Todd CW, Maguire JH, Portugal D, Santana O, Ribeiro Filho R, Sherlock IA. Megaesophagus and seroreactivity to *Trypanosoma cruzi* in a rural community in northeast Brazil. *Am J Trop Med Hyg.* 33: 820–826; 1984.
- Motoike HK, Liu H, Glaaser IW, Yang AS, Tateyama M, and Kass R. The Na⁺ channel inactivation gate is a molecular complex: a novel role of the COOH-terminal domain. *Journal of General Physiology.* 123:155–165; 2004.
- Murcia L, Carrilero B, Munoz-Davila MJ, Thomas MC, Lopez MC, Segovia M. Risk factors and primary prevention of congenital Chagas disease in a nonendemic country. *Clin Infect Dis* 56: 496–502; 2013.
- Myocarditis: comparison with myocardial rejection process. *Virchows Arch A Patho Anat Histopathol* 423: 157–160. 1993.
- Nadruz W. Myocardial remodeling in hypertension. *J Hum Hypertens.* 29:1–6; 2015.
- Nguyen TP, Wang DW, Rhodes TH & George AL Jr. Divergent biophysical defects caused by mutant sodium channels in dilated cardiomyopathy with arrhythmia. *Circ Res* 102: 364–371; 2008.
- Nikulina SY, Chernova AA, Shulman VA, Maksimov VN, Gavrilyuk OA, Tretyakova SS, Marilovceva OV. An investigation of the association of the H558R polymorphism of the SCN5A gene with idiopathic cardiac conduction disorders. *Genet Test Mol Biomarkers.* 19: 288-94; 2015.
- Noble D, Rudy Y. Models of cardiac ventricular action potentials: iterative interaction between experiment and simulation. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series A-Mathematical Physical and Engineering Sciences.* 359: 1127–1142; 2001.
- Noda M, Suzuki H, Numa S, Stühmer W. A single point mutation confers tetrodotoxin and saxotoxin insensitivity on the sodium channel II. *FEBS Lett* 259: 213-216; 1989.

- Nunes MC, Dones W, Morillo CA, Encina JJ, Ribeiro AL. Council on Chagas Disease of the Interamerican Society of Cardiology. Chagas disease: an overview of clinical and epidemiological aspects. *J Am Coll Cardiol*. 62: 767-76; 2013.
- Nunes MC, Kreuser LJ, Ribeiro AL, Sousa GR, Costa HS, Botoni FA, et al. Prevalence and risk factors of embolic cerebrovascular events associated with Chagas heart disease. *Glob Heart*. 10: 151-7; 2015.
- Olesen MS, Jespersen T, Nielsen JB, Liang B, Møller DV, Hedley P, Christiansen M, Varró A, Olesen SP, Haunsø S, Schmitt N & Svendsen JH. Mutations in sodium channel β -subunit *SCN3B* are associated with early-onset lone atrial fibrillation. *Cardiovasc Res* 89: 786–793; 2011.
- Olesen MS, Yuan L, Liang B, Holst N, Nielsen NJ, Nielsen PL. High prevalence of long QT syndrome-associated *SCN5A* variants in patients with early-onset lone atrial fibrillation. *Circ Cardiovasc Genet* 5: 450-459; 2012.
- Oliveira JS, Mello De Oliveira JA, Frederique U Jr, Lima Filho EC. Apical aneurysm of Chagas heart disease. *Br Heart J*. 46:432–437; 1981.
- Olson TM, Michels VV, Ballew DJ, Reyna SP, Karst ML, Herron KJ, Horton SC, Rodeheffer RJ, Anderson JL. Sodium channel mutations and susceptibility of heart failure and atrial fibrillation, *JAMA* 26: 447–454; 2005.
- Olson TM. What makes the heart fail? New insights from defective genes. *Acta Paediatr Suppl*.95:17–21; 2006.
- OMS 2015.<http://www.who.int/wer>
- Organización Mundial de la Salud. La enfermedad de Chagas (tripanosomiasis americana). 2015. URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/es/>.
- Organización Mundial de la Salud. La Enfermedad de Chagas (Trypanosomiasis Americana) Abril 2019.
- Organización Panamericana de la Salud. Guía para el diagnóstico y el tratamiento de la enfermedad de Chagas. Washington, D.C.: OPS; 2018.
- Organización Panamericana de la Salud. Guía para el diagnóstico y el tratamiento de la enfermedad de Chagas. Washington, DC: WHO/ PAHO; 2018.
- Palomino SA, Aiello VD, Higuchi ML. Systematic mapping of hearts from chronic chagasic patients: the association between the occurrence of histopathological lesions and *Trypanosoma cruzi* antigens. *Ann Trop Med Parasitol*. 94:571–579; 2000.
- Parada H, Carrasco HA, Anez N, Fuenmayor C, Inglessis I. Cardiac involvement is a constant finding in acute Chagas' disease: a clinical, parasitological and histopathological study. *Int J Cardiol*. 60:49–54; 1997.
- Parisi P, Oliva A, Coll Vidal M, Partemi S, Campuzano O, Iglesias A, et al. Coexistence of epilepsy and Brugada syndrome in a family with *SCN5A* mutation. *Epilepsy Res*. 105:415–8; 2013.
- Patton DE, West JW, Catterall WA, Goldin AL. Amino acid residues required for fast Na^+ -channel inactivation: charge neutralizations and deletions in the III-IV linker. *Proc Natl Acad Sci USA* 89:10905–10909; 1992.
- Paulussen A, Matthijs G, Gewillig M, Verhasselt P, Cohen N, Aerssens J. Mutation analysis in congenital Long QT Syndrome— a case with missense mutations in *KCNQ1* and *SCN5A*. *Genet Test*. 7:57–61; 2003.

- Pazin-Filho A, Romano MM, Almeida-Filho OC, Furuta MS, Viviani LF, Schmidt A, et al. Minor segmental wall motion abnormalities detected in patients with Chagas' disease have adverse prognostic implications. *Braz J Med Biol Res.* 39:483-7; 2006.
- Pellegrini A, Guiñazu N, Giordanengo L, Cano RC, Gea S. *Fut Microbiol.* 6: 1521-33; 2011.
- Pérez Riera AR, Antzelevitch C, Schapacknik E, Dubner S, and Ferreira C. Is there an overlap between Brugada syndrome and arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia? *J. Electrocardiol.* 38: 260–263; 2005.
- Pérez-Molina JA, Molina I. Chagas disease. *Lancet*; 391: 82–94; 2017.
- Phuong T, Nguyena B, Kevin R, DeMarcoa B, Igor Vorobyova C, Colleen E, Clancya C, and Vladimir Yarov-Yarovoya. Structural basis for antiarrhythmic drug interactions with the human cardiac sodium channel. *PNAS.* 116: 2945–2954; 2019.
- Pissetti CW, Correia D, de Oliveira RF, Llaguno MM, Balarin MA, Silva-Grecco RL, Rodrigues V. Genetic and functional role of TNF-alpha in the development *Trypanosoma cruzi* infection. *PLoS Negl Trop Dis.* 5:976; 2011.
- Poelzing S, Forleo C, Samodell M, Dudash L, Sorrentino S, Anaclerio M, Troccoli R, Iacoviello M, Romito R, Guida P, Chahine M, Pitzalis M, Deschênes I. SCN5A polymorphism restores trafficking of a Brugada syndrome mutation on a separate gene. *Circulation.* 114: 368-76; 2006.
- Porto CC. O eletrocardiograma no prognóstico e evolução da doença de chagas. *Arq Bras Cardiol.* 17:313-46; 1964.
- Prata A. Clinical and epidemiological aspects of Chagas disease. *Lancet Infect Dis.* 1: 92–100; 2001.
- Prata SP, da Cunha DF, da Cunha SF, Prata SC, Nogueira N. Prevalence of electrocardiographic abnormalities in 2,000 aged and non-aged chagasic patients. *Arq Bras Cardiol.* 60: 369-72; 1993.
- Priori SG, Napolitano C, Gasparini M, Pappone C, Della Bella P, Giordano U, Bloise R, Giustetto C, De Nardis R, Grillo M, Ronchetti E, Faggiano G, Nastoli J. Natural history of Brugada syndrome: insights for risk stratification and management. *Circulation.* 105:1342-7; 2002.
- Purcell S, Neale B, Todd-Brown K, Thomas L, Ferreira MA, Bender D, Maller J, Sklar P, de Bakker PI, Daly MJ, Sham PC. PLINK: a tool set for wholegenome association and population-based linkage analyses. *Am J Hum Genet* 81: 559–575; 2007.
- Rabelo DR, Rocha MO, de Barros MV, Silva JL, Tan TC, Nunes MC. Impaired Coronary flow reserve in patients with indeterminate form of Chagas' disease. *Echocardiography.* 31: 67-73; 2014.
- Radico F, Cicchitti V, Zimarino M, De Caterina R. Angina pectoris and myocardial ischemia in the absence of obstructive coronary artery disease: practical considerations for diagnostic tests. *JACC Cardiovasc Interv.* 7: 453-63; 2014
- Ramírez JD, Montilla M, Cucunubá ZM, Floréz AC, Zambrano P, Guhl F. Molecular epidemiology of human oral Chagas disease outbreaks in Colombia. *PLOS Neglect Trop Dis* 7:2041; 2013.

- Rassi A Jr, Dias JC, Marin-Neto JA, Rassi A. Challenges and opportunities for primary, secondary, and tertiary prevention of Chagas' disease. *Heart* 95: 524-34; 2009.
- Rassi A Jr, Rassi A, Little WC, Xavier SS, Rassi SG, Rassi AG, Rassi GG, Hasslocher-Moreno A, Sousa AS, Scanavacca MI. Development and validation of a risk score for predicting death in Chagas' heart disease. *N Engl J Med* .355: 799-808; 2006.
- Rassi A Jr, Rassi A, Marcondes de Rezende J. American tripanosomiasis (Chagas disease). *Infect Dis Clin North Am* 26: 275-91; 2012.
- Rassi A Jr, Rassi A, Marin-Neto JA. Chagas disease. *Lancet* 375: 1388–402; 2010.
- Rassi A Jr, Rassi SG, Rassi A. Sudden death in Chagas' disease. *Arq Bras Cardiol.* 76: 75-96; 2001.
- Rassi A, Jr, Marin JA, Neto, Rassi A. Chronic Chagas cardiomyopathy: a review of the main pathogenic mechanisms and the efficacy of etiological treatment following the Benznidazole Evaluation for Interrupting Trypanosomiasis (BENEFIT) trial. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 112: 224–235; 2017.
- Rassi A, Jr, Rassi A & Little WC. Chagas' heart disease. *Clinic Cardiol.* 23: 883-889; 2000.
- Rassi Junior A, Gabriel Rassi A, Gabriel Rassi S, Rassi Junior L, Rassi A. Ventricular arrhythmia in Chagas disease. Diagnostic, prognostic, and therapeutic features. *Arq Bras Cardiol.*65: 377-87; 1995.
- Reddy VS, Harskamp RE, van Ginkel MW, Calhoun J, Baisden CE, Kim IS, Valente AJ & Chandrasekar B. Interleukin-18 stimulates fibronectin expression in primary human cardiac fibroblasts via PI3K-Akt-dependent NF-kappaB activation. *J of Cell Physiol.*215: 697-707; 2008.
- Reis Machado J, Silva MV, Borges DC, da Silva CA, Ramirez LE, dos Reis MA, Castellano LR, Rodrigues V and Bertulucci Rocha Rodrigues D. Immunopathological aspects of experimental *Trypanosoma cruzi* reinfections. *BioMed Res Internat.* 9; 2014.
- Remme CA, Verkerk AO, HoogaarsWM, AanhaanenWT, Scicluna BP, Annink C, van den Hoff MJ,Wilde AA, van Veen TA, Veldkamp MW, de Bakker JM, Christoffels VM & Bezzina CR .The cardiac sodium channel displays differential distribution in the conduction system and transmural heterogeneity in the murine ventricular myocardium. *Basic Res Cardiol* 104: 511–522; 2009.
- Remme CA, Wilde AAM. SCN5A overlap syndromes: no end to disease complexity? *Europace* 10:1253–5; 2008.
- Ribeiro AL, Marcolino MS, Prineas RJ, Lima-Costa MF. Electrocardiographic abnormalities in elderly Chagas disease patients: 10-year follow-up of the Bambui Cohort Study of Aging. *J Am Heart Assoc.*3: 000632; 2014.
- Ribeiro AL, Nunes MP, Teixeira MM, Rocha MO. Diagnosis and management of Chagas disease and cardiomyopathy. *Nat Rev Cardiol.* 9: 576-89; 2012.
- Ribeiro AL, Sabino EC, Marcolino MS, Salemi VM, Ianni BM, Fernandes F, Nastari L, Antunes A, Menezes M, Oliveira CD, Sachdev V, Carrick DM, Busch MP, Murphy EL. Electrocardiographic abnormalities in *Trypanosoma cruzi*

- seropositive and seronegative former blood donors. *PLoS Negl Trop Dis.* 7:2078; 2013.
- Riol-Blanco L, Sanchez-Sanchez N, Torres A, Tejedor A, Narumiya S, Corbi AL, Sanchez-Mateos P & Rodriguez-Fernandez JL. The chemokine receptor CCR7 activates in dendritic cells two signaling modules that independently regulate chemotaxis and migratory speed. *J of Immun.* 174: 4070-4080; 2005.
 - Rochitte CE, Oliveira PF, Andrade JM, Ianni BM, Parga JR, Ávila LF, Kalil-Filho R, MD, Mady C, Meneghetti JC, Lima, JAC, Ramires JAF. Myocardial delayed enhancement by magnetic resonance imaging in patients with Chagas disease: a marker of disease severity. *J Am Coll Cardiol.* 46:1553–1558; 2005.
 - Rodrigues AA, Notário AFO, Teixeira TL. A high throughput analysis of cytokines and chemokines expression during the course of *Trypanosoma cruzi* experimental oral infection. *Acta Tropica.* 157:42–53; 2016.
 - Rodriguez MV, Hernandez WY, Garcia AN, Colato CM, Cardoza PG, Cardozo LM. ELISA seroprevalence of *Trypanosoma cruzi* in a cohort of heart disease patients. *J Infect Dev Ctries.* 7: 348-54; 2013.
 - Rohr S, Kucera JP, Kleber AG. Slow conduction in cardiac tissue, I – effects of a reduction of excitability versus a reduction of electrical coupling on microconduction. *Circulation Res.* 83:781–794; 1998.
 - Romaña C .Ganglios satélites a la puerta de entrada ocular. En: Enfermedad de Chagas, 1963.
 - Rosenbaum MB, Alvarez AJ. The electrocardiogram in chronic chagasic myocarditis. *Am Heart J.* 50: 492-527; 1955.
 - Rosenbaum MB. Chagasic cardiomyopathy. *Prog Cardiovasc Dis.* 7:199 –225; 1964.
 - Rossi MA & Carobrez SG. Experimental *Trypanosoma cruzi* cardiomyopathy in BALB/c mice: histochemical evidence of hypoxic changes in the myocardium. *British J of Experimen Pathol.* 66: 155 – 160; 1985.
 - Rossi MA. Microvascular changes as a cause of chronic cardiomyopathy in Chagas' disease. *Am Heart J.* 120: 233–236; 1990.
 - S Shah, CP. Nelson, TR. Gaunt, P van der Harst, T Barnes, PS. Braund, DA. Gene Coexpression Network Topology of Cardiac Development, Hypertrophy and Failure *Circ Cardiovasc Genet.* 4: 626-635; 2011.
 - Sabino EC, Ribeiro AL, Salemi VMC, et al. Ten-year incidence of Chagas cardiomyopathy among asymptomatic *Trypanosoma cruzi*-seropositive former blood donors. *Circulation.* 127: 1105–15; 2013.
 - Sakai N, Wada T, Yokoyama H, Lipp M, Ueha S, Matsushima K & Kaneko S. Secondary lymphoid tissue chemokine (SLC/CCL21)/CCR7 signaling regulates fibrocytes in renal fibrosis. *Proc of the Nat Acad Scien U S A.* 103: 14098-14103; 2006.
 - Samuels AM, Clark EH, Galdos Cardenas G, Wiegand RE, Ferrufino L, Menacho S, Gil J, Spicer J, Budde J, Levy MZ, Bozo RW, Gilman RH ,Bern C. Epidemiology of and impact of insecticide spraying on Chagas disease in communities in the Bolivian Chaco. *PLoS Negl Trop Dis.* 7: 2358; 2013.
 - Sanbe A. Dilated cardiomyopathy: a disease of the myocardium, *Biol. Pharm. Bull.* 36. 18–22; 2013.

- Sanchez LV, Ramirez JD. Congenital and oral transmission of American trypanosomiasis: an overview of physiopathogenic aspects. *Parasitology* 140:147–59; 2013.
- Savino W, Villa-Verde DMS, Mendes-da-Cruz DA, Silva-Monteiro E, Perez AR, Aoki MDP, Bottasso O, Guiñazu N, Silva-Barbosa SD, Gea S. Cytokines and cell adhesion receptors in the regulation of immunity to *Trypanosoma cruzi*. *Cytokine & Growth Factor Reviews*.18: 107–124; 2007.
- Schijman AG, Vigliano C, Burgos J, Favaloro R, Perrone S, Laguens R, Levin MJ. Early diagnosis of recurrence of *Trypanosoma cruzi* infection by polymerase chain reaction after heart transplantation of a chronic Chagas' heart disease patient. *J Heart Lung Transplant*. 19:1114–1117; 2000.
- Schijman AG, Vigliano CA, Viotti RJ, Burgos JM, Brandariz S, Lococo BE, Leze MI, Armenti HA & Levin MJ. *Trypanosoma cruzi* DNA in cardiac lesions of Argentinean patients with end-stage chronic chagas heart disease. *Am J of Trop Med and Hyg*.70: 210-220; 2004.
- Schmunis GA, Kemmerling U, Bosco C, Galanti N. Epidemiology of Chagas disease in non-endemic countries: the role of international migration. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 30: 75-85; 2007.
- Schmunis GA. Infection and invasion mechanisms of *Trypanosoma cruzi* in the congenital transmission of Chagas' disease: a proposal. *Biol Res*.43:307-16; 2010.
- Schulze-Bahr E. Cardiac sodium channels: dysregulation meets myocardial failure. *Cardiovasc Res*.75:455– 456; 2007.
- Shikanai-Yasuda MA, Carvalho NB. Oral transmission of Chagas disease. *Clin Infect Dis*. 54: 845–52; 2012.
- Shinlapawittayatorn K, Du XX, Liu H, Ficker E, Kaufman ES, Deschênes I. A common SCN5A polymorphism modulates the biophysical defects of SCN5A mutations. *Heart Rhythm*. 8:455–62; 2011.
- Shippey SH III, Zahn CM, Cisar MM, Wu TJ, Satin AJ. Use of the placental perfusion model to evaluate transplacental passage of *Trypanosoma cruzi*. *Am J Obstet Gynecol*. 192: 586-91; 2005.
- Silveira AC. Entomological survey (1975–1983) *Rev da Soc Bras MedTrop*. 44:26–32; 2011.
- Simões MV, Dias Romano MM, Schmidt A, Macedo Martins KS, Marin-Neto JA. Chagas Disease Cardiomyopathy. *Internat J of Cardiovasc Scien*.31: 173-189; 2018.
- Smith MR, Goldin AL. Interaction between the sodium channel inactivation linker and domain III S4–S5. *Biophysic J*. 73:1885–1895; 1997.
- Sterin-Borda L, Leiros CP, Goin JC, Cremaschi G, Genaro A, Echagüe AV & Borda E. Participation of Nitric Oxide Signaling System in the Cardiac Muscarinic Cholinergic Effect of Human Chagasic IgG. *J of Mol and Cell Cardiol*. 29: 1851-1865; 1997.
- Stühmer W, Conti F, Suzuki H, Wang X, Noda M, Yahagi N, Kubo H & Numa S. Structural parts involved in activation and inactivation of the sodium channel. *Nature*. 339:597-603; 1989.
- Suarez JA, Puigbó JJ, Nava-Rhode JR, Valero JA, Gil-Yepez C. Pathological study of 210 cases of cardiomyopathies in Venezuela. *Acta Med Venez*.15:320 –330; 1968.

- Svetlana Y, Nikulina A, Chernova A, Shulman VA, Maksimov VN, Gavriyuk OA, Tretyakova S, Marilovceva OV. An Investigation of the Association of the H558R Polymorphism of the SCN5A Gene with Idiopathic Cardiac Conduction Disorders. Genetic testing and molecular biomarkers. Volume 19, Number 6. 2015.
- Talvani A, Rocha MOC, Ribeiro AL, Borda E, Sterin-Borda L & Teixeira MM. Levels of anti-M2 and anti-beta 1 autoantibodies do not correlate with the degree of heart dysfunction in Chagas' heart disease. *Microbes and Infect.* 8: 2459-2464; 2006.
- Tan BH, Valdivia CR, Rok BA, Ye B, Ruwaldt KM, Tester DJ, Ackerman MJ, Makielski JC. Common human SCN5A polymorphisms have altered electrophysiology when expressed in Q1077 splice variants. *Heart Rhythm* 2:741–7; 2005.
- Tan HL, Bezzina CR, Smits JP, Verkerk AO, Wilde AAM. Genetic control of sodium channel function. *Cardiovasc Res.* 57: 961–73; 2003.
- Tan HL, Bink-Boelkens MT, Bezzina CR, Viswanathan PC, Beaufort-Krol GC, van Tintelen PJ, van den Berg MP, Wilde AA, Balser JR. A sodium-channel mutation causes isolated cardiac conduction disease. *Nature.* 409:1043–1047; 2001.
- Tanowitz HB, Gumprecht JP, Spurr D, Calderon TM, Ventura MC, Raventos-Suare C, Kellie S, Factor SM, Hatcher VB, Wittner M & Berman J. Cytokine Gene Expression of Endothelial Cells Infected with *Trypanosoma cruzi*. *J Infect Dis.* 166: 598-603; 1992.
- Tanowitz HB, Kirchhoff LV, Simon D, Morris SA, Weiss LM, Wittner M. Chagas disease. *Clin Microb Rev* 5: 400-419; 1992.
- Tanowitz HB. Infection of Endothelial Cells with *Trypanosoma cruzi* Activates NF-kappa B and Induces Vascular Adhesion Molecule Expression. *Infect and Immun* 67: 5434-5440; 1999.
- Tarleton RL. Chagas disease: a role for autoimmunity. *Trends in Parasitol*; 19: 447-451; 2003.
- Tarleton RL. Parasite persistence in the aetiology of Chagas disease. *Int Parasitol.* 31:550–554; 2001.
- Tarradas A, Pinsach-Abuin ML, Mackintosh C, Llorà-Batlle O, Pérez-Serra A, Batlle M, Pérez-Villa F, Zimmer T, Garcia-Bassets I, Brugada R, Beltran-Alvarez P, Pagans S. Transcriptional regulation of the sodium channel gene (SCN5A) by GATA4 in human heart. *J Mol Cell Cardiol.* 102:74-82; 2017.
- Teixeira ARL, Nascimento RJ, Sturm NR. Evolution and pathology in Chagas disease A review. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 101: 463-491; 2006.
- Teixeira MM, Gazzinelli RT, Silva JS. Chemokines, inflammation and *Trypanosoma cruzi* infection. *Trends Parasitol* 18: 262–265. 2002.
- Terhoch CB, Moreira HF, Ayub-Ferreira SM, Conceição-Souza GE, Salemi VMC, Chizzola PR. Clinical findings and prognosis of patients hospitalized for acute decompensated heart failure: Analysis of the influence of Chagas etiology and ventricular function. *PLoS Negl Trop Dis.* 12:0006207; 2018.
- Tester DJ, Valdivia C, Harris-Kerr C, Alders M, Salisbury BA, Wilde AA. Epidemiologic, molecular, and functional evidence suggest A572D-SCN5A should not be considered an independent LQT3-susceptibility mutation. *Heart Rhythm*; 7:912-9; 2010.

- Tester DJ, Will ML, Haglund CM, Ackerman MJ. Compendium of cardiac channel mutations in 541 consecutive unrelated patients referred for long QT syndrome genetic testing. *Heart Rhythm*. 2:507–517; 2005.
- Toledo MJ, Bahia MT, Carneiro CM, Martins-Filho OA, Tibayrenc M, Barnabe C, Tafuri WL, de Lana M. Antimicrob Agents Chemother 47: 223–230; 2003.
- Torreão JA, Ianni BM, Mady C. Myocardial tissue characterization in Chagas' heart disease by cardiovascular magnetic resonance. *J of Cardiovasc Mag Res* 17:97; 2015.
- Tyler KM, Engman DM. The life cycle of *Trypanosoma cruzi* revisited. *Int J Parasitol*. 5-6: 472-81; 2001.
- Ulbricht W. Sodium Channel Inactivation: Molecular determinants and modulation. *Physiol Rev*. 85:1271-1301; 2005.
- Ulrike Kemmerlinga C, Boscoa C and Galantib de Bittencourt N. Infection and invasion mechanisms of *Trypanosoma cruzi* in the congenital transmission of Chagas' disease: A proposal. *Biol Res* 43: 307-316; 2010.
- Vago AR, Andrade LO, Leite AA, d'Ávila Reis D, Macedo AM, Adad SJ, Tostes Jr S, Moreira MCV, Filho GB, Pena SDJ. Genetic characterization of *Trypanosoma cruzi* directly from tissues of patients with chronic Chagas disease: differential distribution of genetic types into diverse organs. *Am J Pathol* 156:1805- 1809; 2000.
- Vasconcelos RH, Montenegro SM, Azevedo EA, Gomes YM, Morais CN. Genetic susceptibility to chronic Chagas disease: an overview of single nucleotide polymorphisms of cytokine genes. *Cytokine*. 59:203–8; 2012.
- Vassilev P, Scheuer T, Catterall WA. Inhibition of inactivation of single sodium channels by a site-directed antibody. *Proc of the Nat Acad of Sci of the USA* 86: 8147–8151; 1989.
- Veerman CC, Wilde AA, Lodder EM. The cardiac sodium channel gene SCN5A and its gene product NaV1.5: Role in physiology and pathophysiology. *Gene*. 573:177-87; 2015.
- Verkerk AO, Amin AS, and Remme CA. Disease Modifiers of Inherited SCN5A Channelopathy. *Front Cardiovasc Med*. 5: 137; 2018.
- Verstraelen TE, Ter Bekke RM, Volders PG, Masclee AA, Kruimel JW. The role of the SCN5A-encoded channelopathy in irritable bowel syndrome and other gastrointestinal disorders. *Neurogastroenterol Motil*. 27: 906–13; 2015.
- Vilin YY, Ruben PC. Slow inactivation in voltage-gated sodium channels: molecular substrates and contributions to channelopathies. *Cell Biochem. Biophys*. 35:171–190; 2001.
- Viswanathan PC & Balser JR. Inherited sodium channelopathies: a continuum of channel dysfunction. *Trends Cardiovasc Med*. 14: 28–35; 2004.
- Viswanathan PC, Benson DW, Balser JR. A common SCN5A polymorphism modulates the biophysical effects of an SCN5A mutation. *J Clin Invest* 111: 341-6; 2003.
- Wang DW, Makita N, Kitabatake A, Balser JR, George AL Jr. Enhanced Na⁺ channel intermediate inactivation in Brugada syndrome. *Circulation Res* 87:37–43; 2000.

- Watanabe H, Koopmann TT, Le Scouarnec S, Yang T, Ingram CR, Schott JJ, Demolombe S, Probst V, Anselme F, Escande D, Wiesfeld AC, Pfeufer A, K'ā'āb S, Wichmann HE, Hasdemir C, Aizawa Y, Wilde AA, Roden DM & Bezzina CR. Sodium channel $\beta 1$ subunit mutations associated with Brugada syndrome and cardiac conduction disease in humans. *J Clin Invest* 118: 2260–2268; 2008.
- Wegner DH, Rohwedder RW. The effect of nifurtimox in acute Chagas' infection. *Arzneimittelforschung*. 22: 1624–35; 1972.
- Wendel S. Transfusion transmitted Chagas disease: is it really under control? *Acta Trop* 115:28–34; 2010.
- West JW, Patton DE, Scheuer T, Wang Y, Goldin AL, and Catterall WA. A cluster of hydrophobic amino acid residues required for fast Na^+ -channel inactivation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 89:10910–10914; 1992.
- WHO Report on Chagas Disease. World Health Organization on behalf of the Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases. 2007.
- WHO. Control of Chagas disease: second report of the WHO expert Committee. WHO technical report series, 905. Geneva: World Health Organization, 2002.
- Wilde AAM, Amin AS. Clinical spectrum of SCN5A mutations: long QT syndrome, Brugada syndrome, and cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol Clin Electrophysiol*. 4:569–79; 2018.
- Williams-Blangero S, Magalhaes T, Rainwater E, Blangero J, Correa-Oliveira R, Vandeberg JL. Electrocardiographic characteristics in a population with high rates of seropositivity for *Trypanosoma cruzi* infection. *Am J Trop Med Hyg*. 77: 495-9; 2007.
- Williams-Blangero S, VandeBerg JL, Blangero J, Corrêa-Oliveira R. Genetic epidemiology of Chagas disease. *Adv Parasitol*. 75:147–167; 2011.
- Wolf CM & Berul CI. Inherited conduction system abnormalities—one group of diseases, many genes. *J Cardiovasc Electrophysiol* 17: 446–455; 2006.
- World Health Organization (WHO) *Preventing Mother-to-Child Transmission of Chagas disease: from Control to Elimination*. WHO: Neglected tropical disease; 2018.
- Yagihara N, Watanabe H, Barnett P, Duboscq-Bidot L, Thomas AC, Yang P, Ohno S, Hasegawa K, Kuwano R, Chatel E, Redon R, Schott JJ, Probst V, Koopmann TT, Bezzina CR, Wilde AAM, Nakano Y, Aiba T, Miyamoto Y, Kamakura S, Darbar D, Donahue BS, Shigemizu D, Tanaka T, Tsunoda T, Suda M, Sato A, Minamino T, Endo N, Shimizu W, Horie M, Roden DM, Makita N. Variants in the SCN5A Promoter Associated With Various Arrhythmia Phenotypes *J Am Heart Assoc*. 5:003644; 2016.
- Yang N, George A, Horn R. Molecular basis of charge movement in voltage-gated sodium channels. *Neuron* 16:113–122; 1996.
- Yang Y, Hu D, Sacher F, Kusano KF, Li X, Barajas-Martinez H, Hocini M, Li Y, Gao Y, Shang H, Xing Y Meta-Analysis of Risk Stratification of SCN5A With Brugada Syndrome: Is SCN5A Always a Marker of Low Risk? *Front Physiol*. 10:103; 2019.

- Ye B, Valdivia CR, Ackerman MJ, and Makielski JC. A common human SCN5A polymorphism modifies expression of an arrhythmia causing mutation. *Physiol. Genomics* 12:187–193; 2003.
- Yeo M, Acosta N, Llewellyn M, Sánchez H, Adamson S, Miles GAJ, López E, González N, Patterson JS, Gaunt MW, de Arias AR, Miles MA. Origins of Chagas disease: *Didelphis* species are natural hosts of *Trypanosoma cruzi* I and armadillos hosts of *Trypanosoma cruzi* II, including hybrids. *Internat J Parasitol* 35: 225-233; 2005.
- Yeo M, Lewis MD, Carrasco HJ, Acosta N, Llewellyn M, da Silva Valente SA, de Costa Valente V, de Arias AR, Miles MA. Resolution of multiclonal infections of *Trypanosoma cruzi* from naturally infected triatomine bugs and from experimentally infected mice by direct plating on a sensitive solid medium. *Int J Parasitol.*37:111–120; 2007.
- Yoo S, Dobrzynski H, Fedorov VV, Xu SZ, Yamanushi TT, Jones SA, Yamamoto M, Nikolski VP, Efimov IR & BoyettMR . Localization of Na⁺ channel isoforms at the atrioventricular junction and atrioventricular node in the rat. *Circulation* 114: 1360–1371; 2006.
- Yoshida N & Cortez MR. *Trypanosoma cruzi: parasite and host cell signaling during the invasion process*, Springer Science, Houton. 2008.
- Yoshida N. Molecular basis of mammalian cell invasion by *Trypanosoma cruzi*. *An Acad Bras Cienc.* 78: 87-111; 2006.
- Yoshida N. *Trypanosoma cruzi* infection by oral route: how the interplay between parasite and host components modulates infectivity. *Parasitol Int.*57:105–109; 2008.
- Younées-Chennoufi AB, Hontebeyre-Joskowicz M, Tricottet V, Eisen H, Reynes M. & Said G. Persistence of *Trypanosoma cruzi* antigens in the inflammatory lesions of chronically infected mice. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg.*82: 77; 1988.
- Yu FH, Yarov-Yarovoy V, Gutman GA, Catterall WA. Overview of molecular relationships in the voltage-gated ion channel superfamily. *Pharmacological Reviews.* 57: 387–395; 2005.
- Zingales B, Andrade SG, Briones MR, Campbell DA, Chiari E, Fernandes O, Guhl F, Lages-Silva E, Macedo AM, Machado CR, Miles MA, Romanha AJ, Sturm NR, Tibayrenc M, Schijman AG. A new consensus for *Trypanosoma cruzi* intraspecific nomenclature: second revision meeting recommends TcI to TcVI. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 104: 1051-1054; 2009.
- Zingales B, Miles MA, Campbell DA, Tibayrenc M, Macedo AM, Teixeira MM, Schijman AG, Llewellyn MS, Lages-Silva E, Machado CR, Andrade SG, Sturm NR. The revised *Trypanosoma cruzi* subspecific nomenclature: rationale, epidemiological relevance and research applications. *Infect Gen Evol* 12: 240-253; 2012.

Trabajo enviado a publicar

SCN5A Gene Variants Influence the Predisposition to Chronic Chagasic Cardiac Alterations Romina Laura Blasco (MD)^{1#}, Mariana Strauss (PhD)^{1#}, Daniela Alejandra Velázquez López (Biol)¹, Sandra Tabares (Tech)², Adela Sembaj (PhD)², Héctor Walter Rivarola (PhD)¹, María Silvina Lo Presti (PhD)^{1*} Patricia Adriana Paglini (MD, PhD)¹
Archives of Medical Research. En revisión 2019.

Trabajos Científicos presentados en Congresos Nacionales e Internacionales durante la realización de la Tesis

- **“Persistencia del Trypanosoma cruzi en la fase crónica y su relación con la clínica de los pacientes chagásicos”**. Miler N; Fernández, G, Gil Giliberti, M; Blasco R, Ferrero, M, Asis L, Lo Presti, S, Bazán, C, Rivarola W, Paglini, P. Trabajo presentado en el XXX Congreso Nacional de Cardiología. Salta. Rev Fed Arg Cardiol; 41 (sup.1) 2012.
- **“Evaluación de pacientes chagásicos crónicos, sus características clínicas y su relación con la presencia del *trypanosoma cruzi* en circulación”**. Miler N, Ferrero M, Asís EL, Blasco r, Lo Presti S, Bazán PC, Strauss M, Rivarola HW, Paglini P. XXVI Reunión Anual de la Sociedad Argentina de Protozoología. Rosario. Octubre 2013.
- **“Persistence of Trypanosoma cruzi in the chronic phase of Chagas disease”**. N. Miler; G. Fernández; R. Blasco; M. Ferrero; L. Assis; S. Lo Presti; C. Bazán; W. Rivarola; P. Paglini. Octavo congreso internacional de Cardiología por internet. XXXI congreso Nacional de Cardiología. Federación Argentina de Cardiología. Rosario, Santa Fe, Septiembre de 2013.
- **“Estudio preliminar de las variaciones polimórficas de genes de conexina 43 y SCN5A en pacientes con serología positiva para Enfermedad de Chagas y su correlación con trastornos electrocardiográficos”**. Blasco R, Miler N, Lo Presti S, Fernández G, Sembaj A, Tobares S, Bazán C, Báez A, Rivarola W, Paglini P. XXXII Congreso Nacional de Cardiología. Mendoza (29 - 31 de Mayo de 2014).

- **“Estudios electrocardiográficos en ratones infectados con diferentes cepas de *T. cruzi* y tratados con clomipramina”**. Bazán C, Strauss M, Lo Presti S, Báez A, Miler N, Moya D, Blasco R, Paglini P, Rivarola W. XXXII Congreso Nacional de Cardiología. Mendoza (29- 31 de Mayo de 2014).
- **“Estudio preliminar de las variaciones polimórficas del gen SCN5A en pacientes con serología positiva para Chagas y su correlación con síntomas clínicos y trastornos electrocardiográficos”**. Blasco R, Sembaj A, Tobares S, Miler N, Lo Presti MS, Bazán C, Báez A, Rivarola W. XV Jornada de Investigación Científica de la Facultad de Ciencias Médicas R.D. 895/14. Córdoba (24 de Octubre de 2014).
- **“El gen SCN5A en chagásicos en relación a síntomas clínicos y electrocardiografía”**. III Congreso del Foro Argentino de Facultades y Escuelas de Medicina Públicas. Universidad Nacional del Litoral (18-20 septiembre de 2014).
- **“Evaluación de la variabilidad genética de pacientes chagásicos con persistencia de *T. cruzi*”**. Blasco R, Miler N, Velázquez D, Sembaj A, Tobares S, Lo Presti S, Bazán PC, Strauss M, Báez A, Rivarola HW, Paglini P. LIX Reunión Científica Anual de la Sociedad Argentina de Investigación Clínica (SAIC). Mar del Plata (19-22 de Noviembre de 2014).
- **Análisis de pacientes con Serología positiva para Enfermedad de Chagas con Persistencia de *T. cruzi***. Miler N, Blasco R, Velázquez D, Lo Presti S, Bazán C, Strauss M, Báez A, Rivarola W, Paglini P. X Congreso de Protozoología y Enfermedades parasitarias. Mar del Plata (16 -18 de Noviembre de 1014).
- **“Análisis de pacientes con enfermedad de Chagas y otras patologías asociadas”**. Bruno Selva, Romina Blasco, Noemi Miler, Silvina Lo Presti, Daniela Velazquez, H. Walter Rivarola. X Congreso de Protozoología y Enfermedades parasitarias. Mar del Plata (16- 18 de Noviembre de 1014).
- **“Estudio del gen SCN5A en pacientes con serología positiva para Chagas y su correlación con la clínica y los trastornos electrocardiográficos”**. Blasco R, Miler N, Velázquez D, Sembaj A, Tobares S, Fernández G, Lo Presti S, Bazán PC, Strauss M, Báez A, Rivarola HW, Paglini P. XXXIII Congreso Nacional de Cardiología. Rosario- Argentina (28- 30 de Mayo de 2015).

- **“Estudio del polimorfismo A572D del gen SCN5A como posible factor genético de riesgo en pacientes con serología positiva para Chagas”**. Blasco R, Miller N, Velázquez D, Sembaj A, Tabares S, Lo Presti S, Bazán PC, Paglini P. XVI Jornada de Investigación Científica de la Facultad de Ciencias Médicas R.D. 271/15. Córdoba (28 de Octubre de 2015).
- **“Variabilidad clínica de la enfermedad de Chagas con respecto a la persistencia del parásito y distribución geográfica de los pacientes”**. XVI Jornada de Investigación Científica de la Facultad de Ciencias Médicas R.D. 271/15. Córdoba (28 de Octubre de 2015).
- **“Polimorfismo del gen SCN5A como posible factor de riesgo en pacientes con serología positiva para Chagas”**. Blasco R, Miler N, Velázquez D1, Sembaj A, Tabares S, Fernández G, Lo Presti S, Bazán C, Strauss M, Báez A, Rivarola W, Paglini P. IX Congreso Nacional de la Sociedad Española de Medicina Tropical y Salud Internacional .Calpe, Alicante (22- 24 de Octubre de 2015).
- **“Polimorfismo A572D y H558R del gen SCN5A como posibles factores de riesgo en pacientes con serología positiva para Chagas”**. Blasco, R, Miler, N, Velázquez, D, Sembaj, A, Tabares, S, Fernandez, G, L O Presti, S, Paglini, P. VI Congreso Nacional de Medicina Interna. Córdoba (11-13 de mayo de 2016).
- **“Persistencia de *T. cruzi* y crecimiento de aurícula izquierda, dos factores a ser analizados en pacientes chagásicos”**. Miler, N, Blasco, R, Merschon, F, Velázquez, D, Bazán, PC, Strauss, M, Lo Presti, S, Paglini, P. VI Congreso Nacional de Medicina Interna. Córdoba (11- 13 de mayo de 2016).
- **“Influencia de la presencia de *T. cruzi* en el desarrollo de arritmias en pacientes con serología positiva y sin cardiopatía”**. Merschon F, Blasco R, Miler N, Velázquez D, Strauss M, Bazán C, Báez A, Rivarola W, Lo Presti S, Paglini P. XXXIV Congreso Nacional de Cardiología. Córdoba (22 – 24 de mayo de 2016).
- **“Polimorfismo H558R del gen SCN5A como posible factor de riesgo de cardiopatía en pacientes con serología positiva para Chagas”**. Blasco R, Merschon F, Miler N, Lo Presti S, Rivarola W, Velázquez D, Strauss M, Tabares S, Sembaj A, Paglini P. XXXV Congreso Nacional de Cardiología. Rosario (01 – 03 de Junio de 2017).
- **“Polimorfismo H558R del gen SCN5A como posible factor de riesgo de cardiopatía en pacientes con serología positiva para Chagas”**. Blasco RL, Strauss M, Miler N, Lo Presti MS, Tabares S, Sembaj A, Rivarola W, Paglini P. XVIII Jornada de Investigación Científica de la Facultad de Ciencias Médicas (19 de octubre de 2017).

- **“Asociación entre los polimorfismos A572D y H558R del gen SCN5A y la presentación clínica de la miocardiopatía chagásica”.** Velázquez D, Blasco R, Strauss M, Miler N, Tabares S, Sembaj A, Rivarola W, Paglini P, Lo Presti S. XXIV Congreso Latinoamericano de parasitología (10-14 de diciembre, 2017, Santiago de Chile).
- **Análisis de la fibrosis miocárdica como factor predictor de aparición de arritmias ventriculares en pacientes chagásicos.** Merschón FM, Blasco R, Miler N, Strauss M, Ponzio M, Rivarola HW, Lo Presti MS, Paglini P. XIX Jornada de Investigación Científica. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba (3 de octubre de 2018).
- **Análisis de los polimorfismos A572D y H558R para detectar un perfil genético de riesgo en pacientes chagásicos.** Blasco R, Strauss M, Velázquez D, Tabares S, Sembaj A, Rivarola W, Lo Presti S, Paglini P. VII Congreso Nacional e Internacional de Medicina Interna. Córdoba (9 – 11 de mayo de 2018).
- **Estudio de los polimorfismos A572D y H558R del gen SCN5A en pacientes con miocardiopatía chagásica.** Velázquez D, Blasco R, Merschón F, Strauss M, Miler M, Tabares S, Sembaj A, Fernández G, Rivarola W, Paglini P, Lo Presti S. XIV Taller sobre la Enfermedad de Chagas. Avances en prevención de la Enfermedad de Chagas. ISGlobal Barcelona. Institute for Global Health. Barcelona, España (8 de marzo de 2018).
- **Variantes genéticas de IL17A e IL18 influyen en la susceptibilidad y desarrollo de la cardiopatía chagásica.** Strauss M, Blasco R, Fernández H, Merschón F, Báez AL, Acosta Herrera M, Robledo G, Paglini P, Martín J, Lo Presti S. XXXVII Congreso Nacional de Cardiología. Rosario (30 de mayo - 1 de junio de 2019).
- **Estudio del polimorfismo H558R del gen SCN5A en la génesis de la cardiopatía chagásica.** Blasco RL, Tabares S, Sembaj A, Strauss M, Lo Presti S, Paglini P. XX Jornada de Investigación Científica. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba (9 de octubre de 2019). Trabajo premiado en el área clínica.