

## Artículo de Revisión

# LA EVOLUTIVIDAD DE LOS ANTICUERPOS ANTI M<sub>2</sub> EN PACIENTES CON ENFERMEDAD DE CHAGAS CRÓNICA

Mitelman Jorge; Giménez Luisa, Ruiz Andrés, Bonzón Gustavo,  
Schapachnik Edgardo, Yanovsky Jorge

El 95% de los individuos con infección por *T. cruzi*, con manifestaciones disautonómicas de diferente naturaleza, presentan en circulación un anticuerpo con actividad inmuno reactiva contra los receptores muscarínicos (M<sub>2</sub>) ubicados en las aurículas y ventrículos de los humanos y también de diversas especies animales (Goin y col. <sup>(1)</sup>). Estos anticuerpos tienen a su vez una actividad de tipo **farmacológica agonista** sobre el mismo receptor, que es bloqueada por su antagonista “la atropina”(Goin y col. <sup>(2)</sup>).

Entre los individuos con presencia de esa clase de anticuerpos un 50% presentan signos evidentes de disautonomía (Mitelman y col. <sup>(3)</sup>). Esto es consistente con el hecho que para que los anticuerpos alcancen a regular hacia la baja la actividad parasimpática se requiere de un proceso. Durante el mismo se produce un lento y progresivo bloqueo de los receptores muscarínicos y esto da lugar a las manifestaciones disautonómicas (Sterin Borda<sup>(4)</sup>). La fuerte asociación entre anticuerpos anti M<sub>2</sub> y las alteraciones funcionales en el sistema nervioso autónomo torna relevantes los estudios sobre su evolutividad en el curso de la infección, tanto la espontánea como la mediada por acciones terapéuticas que procuran desparasitizar de *T. cruzi* a los infectados con este protozoario.

Los anti M<sub>2</sub> son de aparición muy precoz en el curso de la infección. Están presentes casi desde el inicio, así Cutrullis y col.<sup>(5)</sup> los encontraron en el 65% de los niños con reciente infección. En otro estudio entre 350 niños parasitológicamente confirmados pero fuera del período agudo, con edades de 1 a 15 años, presentaba anti M<sub>2</sub> un 20 a un 35% de los afectados. La prevalencia se incrementaba con la edad (Yanovsky J.F.<sup>(6)</sup>).

Se debería prestar atención al hecho que los anti M<sub>2</sub> lo son en respuesta a una estructura antigénica para la cual naturalmente existe un status de tolerancia inmunológica. La aptitud para responder a epitopes presentes en el parásito está seguramente asociada a la ruptura de esa tolerancia. Esta por acción de antígenos miméticos se asocia a los grados de similitud y diferencias entre los dominios antigénicos y la determinación genómica de compatibilidad (Cremaschi y col. <sup>(7)</sup>). Es posible que una presencia inicial más intensa del estímulo antigénico, por mayor parasitemia, como acontece en la fase aguda, logre facilitar repuestas miméticas para el receptor. La caída de la parasitemia puede acompañarse, habida cuenta de la tolerancia, de un rápido decremento de las reactividades para los dominios antigénicos más próximos a la tolerancia. Este decremento se revierte con el tiempo muy probablemente debido a la persistencia de la parasitosis.

En relación a lo expuesto mas arriba cabe destacar que solo una fracción de los parasitados produce anticuerpos anti M<sub>2</sub>. El 50/60% de los parasitados no resultan sensibles a este estímulo.

La relación entre intensidad parasitaria, aparición y persistencia de los anticuerpos anti M<sub>2</sub>, llevó a suponer que el tratamiento parasiticida podría tener efectos significativos sobre la presencia de anti M<sub>2</sub> circulantes a posteriori de la acción de un fármaco como el Benznidazol (BZN). A. Ruiz y col.<sup>(8)</sup> se abocaron a esta cuestión y encontraron que entre 38 pacientes seroreactivos, entre 2 y 14 años de edad que recibieron tratamiento con BZN (7mg/kilo/día por 60 días), los estudios pre- tratamiento mostraron 42.1% (16/38) de pacientes reactivos con Ac anti M<sub>2</sub> DO promedio  $\pm$  SD (0.31 $\pm$ 0.38) y post-tratamiento (6 y 24 meses) 7.8% (3/38), (0.12 $\pm$ 0.15), p: 0.003. En estos pacientes la serología convencional mostró 60% (23/38) de reactividad al final del seguimiento.

Estos autores además evaluaron 61 pacientes adultos con ECH crónica (25 recibieron placebo y 36 fueron tratados) del ensayo clínico aleatorizado a doble ciego en fase 3 (TRAENA) tratados con BZN dosis de 5 mg/kg/día por 60 días. Este ensayo involucró 764 personas con distinto compromiso cardíaco y diez años de seguimiento. En el pretratamiento 27 pacientes presentaron Ac anti M<sub>2</sub> (44.3%) mientras que a los 60 días post tratamiento se encontraron 10/25 (40%) en la población placebo (0.62 $\pm$ 0.96) y 6/36, (16.6%), (0.24 $\pm$ 0.49) en la

población tratada con BZN, (p: 0.046). A los 10 años post-tratamiento los valores fueron 12/24 (50%), (0.66±1.04) y 8/34 (23.5%), (0.22±0.37) respectivamente para Placebo y BZN (p: 0.026).

La negativización serológica acelerada para esta clase de anticuerpo debería tomar en consideración que se trata de anticuerpos de baja afinidad para su interacción con los determinantes antigénicos del segundo loop del receptor muscarínico. Hemos comprobado que una solución de sales de colina al 5% es capaz de inhibir totalmente la interacción entre estos anticuerpos y los péptidos que representan los epitopes más reactivos del segundo loop (Yanovsky JF. <sup>(9)</sup>). En los mismos sueros y con la misma concentración de sales de colina se mantiene intacta la interacción entre los anticuerpos anti T. cruzi y los antígenos parasitarios. Las soluciones con sales de colina son de uso habitual en serología para interferir en la actividad reactiva de diversas macromoléculas presentes en los sueros de individuos con infecciones crónicas de naturaleza múltiple (Un caso prototípico es la inhibición que las sales de colina ejercen sobre la proteína C reactiva).

Es conocido que anticuerpos de baja afinidad requieren de una significativa estimulación antigénica para sostener su presencia. Este hecho los torna más susceptibles a caídas aceleradas de reactividad si se afecta la masa de antígeno (parásito) en este caso por efecto terapéutico.

Nos encontramos ante la primera evidencia en que un tratamiento dirigido específicamente **contra un agente infeccioso restringe o impide la presencia de un auto anticuerpo contra antígenos de receptores a neurotransmisores**. Este fenómeno que denominamos una suerte de “mimetismo reverso” en que se actúa contra el parásito y lo primero que se manifiesta es la desaparición de los anti M<sub>2</sub> **resulta paradójal y destacable en término biológicos**.

Con motivo de todo lo expuesto podríamos afirmar que la identificación de anticuerpos anti M<sub>2</sub> el seguimiento de los pacientes chagasicos tiene en principio dos objetivos:

El primero está referido al rol patogénico. Distintos autores han señalado que la presencia de estos anticuerpos sería de mal pronóstico en la evolución de la disautonomía y la miocardiopatía chagásica (Auger S. y col. <sup>(10)</sup>) (Medei E. y col. <sup>(11)</sup>). Asimismo la neutralización de esta clase de anticuerpos por péptidos M<sub>2</sub> inyectados durante el curso de la infección experimental de ratones, aborta la aparición de manifestaciones inflamatorias en el miocardio y otros tejidos (Sterin-Borda y col. <sup>(12)</sup>). La inmuoabsorción de los anticuerpos contra receptores a neurotransmisores provoca una rápida mejora en la hemodinamia cardiaca en la miocardiopatía idiopática dilatada (Hershko y col. <sup>(13)</sup>).

Habida cuenta lo anteriormente expuesto, la reducción o la eliminación de los anticuerpos anti M<sub>2</sub> sería una meta de alto valor médico.

El segundo objetivo es su detección como parte de un algoritmo diagnóstico tal como el que la Asociación Carlos Chagas para la Vigilancia Médica Activa de la Enfermedad de Chagas ha instrumentado en conjunto con el Sistema de Atención Médica del INSSSEP (Instituto de Seguridad Social Seguros y Préstamos) de la Provincia del Chaco –Argentina. En este Programa todo afiliado serológicamente reactivo para antígenos parasitarios de *T. cruzi* (HAI, Elisa lisado total, Elisa recombinante) es investigado para anticuerpos anti M<sub>2</sub>. Los resultados habidos en los primeros 15.000 afiliados ya evaluados de la Obra Social del INSSEP arrojan 850 individuos infectados siendo que el 41% de ellos presentan anticuerpos anti M<sub>2</sub>.

Con esta herramienta se lograría concentrar el hallazgo de pacientes con potenciales manifestaciones disautonómicas, induciendo a estudios electrocardiográficos más minuciosos para corroborar y evaluar su evolutividad clínica, especialmente postterapéutica parasitaria.

Para el profesional de la salud, un tratamiento en el que no hay forma de constatar su efectividad es ajeno a la praxis médica. Esto acontece en pacientes crónicos en los que no se logra modificación de la serología convencional ni se han descripto otros indicadores de eficacia. Sin un instrumento de medición de la evolutividad se torna poco estimulante medicar, especialmente cuando ahora y con los actuales protocolos el tratamiento **no es inocuo**. Más aún no hay forma de asegurar su efectividad en términos de que se habrá de

abortar la evolución hacia una cardiopatía. Esto aún cuando se demuestre la eliminación de los parásitos medidos por técnicas de punta basadas en biología molecular (PCR).

En la tripanosomiasis el uso del Benznidazol o el Nifurtimox no está exento de riesgos pero está abierto el camino para nuevos tipos de protocolos terapéuticos aún con los mismos fármacos en uso. La disminución de la dosis y prolongación en el tiempo o la repetición espaciada de series terapéuticas son posibles como otras que podrían proponerse, siempre y cuando algún tipo de efectividad pudiera medirse en un corto plazo postterapéutico.

**Se trata de una cuestión estratégica.** En la sífilis con mucho menos conocimiento que el que hoy se tiene para la tripanosomiasis los médicos tuvieron entusiasmo para tratar a sus pacientes. Esto ha sido completamente distinto a lo que ocurre en Chagas.

En el caso de la sífilis hubo dos estímulos: 1) La penicilina prácticamente carecía de efectos adversos. 2) Existió un método dirigido a detectar reaginas (anticuerpos no específicos) que desaparecían precozmente, o se reducían con la terapéutica.

Los anticuerpos anti M<sub>2</sub> deben ser vistos con una herramienta oportuna, por su rol patogénico y su asociación precoz con manifestaciones disautonómicas (Pinho Ribeiro y col.<sup>(14)</sup>), la cual diversos trabajos indican como promotora de la cardiopatía (Marin neto y col. <sup>(15)</sup>), para acompañar la evolutividad en aquellos sujetos que los tienen presentes. Estas oportunidades estimularían el estudio evolutivo de signos clínicos significativos, precoces, accesibles y reproducibles como los de la VFC (Leon H. y col. <sup>(16)</sup>) y el indicador FNNF10 desarrollado por Mola y col.<sup>(17)</sup>

Al igual que en la Sífilis poner el esfuerzo en el acompañamiento evolutivo-terapéutico de un anticuerpo no específico o de baja afinidad puede potencialmente abrir un camino **NO dirigido a definir curación**, sino acrecentar protocolos terapéuticos diversos, seriamente fundados en la evidencia serológica rápida. Simultáneamente confirmándolo con la evidencia clínica en las manifestaciones disautonómicas, lo cual pone el centro de la estrategia de

control de la enfermedad de Chagas en la participación activa de los médicos generalistas y de los cardiólogos en particular con resultados clínicos constatables

Una reciente revisión sobre defectos en el flujo microcirculatorio coronario (Marin-Neto y col.<sup>(18)</sup>), presentes en la enfermedad de Chagas en la que los autores continúan denominando forma indeterminada, podría estar fundada en la disfunción del SNA con dominancia simpática y decremento en la actividad parasimpática. Los defectos de perfusión que serían anticipatorios o acompañantes de alternaciones en la motilidad de las paredes ventriculares, podrían ser sospechados desde la existencia de indicadores disautonómicos como los aquí propuestos. Ellos podrían ser la antesala de trastornos con mayor riesgo vital en el funcionalismo cardíaco.

## Bibliografía

- (1) Leonor Sterin-Borda and Enri Borda – Role of neurotransmitter autoantibodies in the pathogenesis of Chagasic peripheral dysautonomia - *Annals of the New York Academy of Sciences* 2000; 917 (1), 273–280
- (2) Goin J.C., Borda E., Perez Leiros C., Storino R., Sterin-Borda L. – Identification of antibodies with muscarinic cholinergic activity in human Chagas' disease: pathological implications – *Journal of the Autonomic Nervous System* 1994; 47:45-52.
- (3) Goin J.C.; Perez 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 Journal* 1997; 11, 77-83
- (4) Mitelman J., Gimenez L, Acuña L., Tomasella M., Cicarelli F., Pugliese O., Sturgeon C., Carradori J. – Anticuerpos antirreceptores a neurotransmisores y su correlación con la alteración de la dispersión del QT y de la variabilidad de la frecuencia cardíaca – *Reblampa* 2006 19(3): XX-XX
- (5) Cutrullis R.; Ballering G.; Altcheh J.; Moscatelli G.; Corral R.; Petray P.; Freilij H. – Anti-M2 muscarinic receptor autoantibodies in Trypanosoma cruzi-Infected pediatric patients treated with benznidazole – *Revista de Patologia Tropical* 2007; 36(2), 141-148.

- (6) Yanovsky J.F. – Prevalencia de anticuerpos contra receptores muscarínicos en grupos de pacientes con infección por *Trypanosoma cruzi* en distintos centros de América Latina. 6° Congreso Internacional de Cardiología por Internet – 2009.
- (7) Cremaschi G.; Fernández M.M.; Gorelik G.; Goin J.C.; Fossati C.A.; Zwirner N.W.; Malchiodi E.L. – Modulatory effects on myocardial physiology induced by an anti-*Trypanosoma cruzi* monoclonal antibody involve recognition of major antigenic epitopes from  $\beta_1$ -adrenergic and M2-muscarinic cholinergic receptors without requiring receptor cross-linking – *Journal of Neuroimmunology* 2004; 153, 99-107.
- (8) Ruiz, A.M.; De Rissio A.M.; Riarte A.; Velazquez E.; Esteva M.; Fusco O.; Yanovsky J. – Disminución de la presencia de anticuerpos antireceptores muscarínicos (M2) en menores de 14 años y adultos con infección por *Trypanosoma cruzi*, tratados con benznidazol – XXVI Reunión Anual de la Sociedad Argentina de Protozoología- 24-25 de Octubre 2013 – Universidad Nacional de Rosario – Argentina – página 83.
- (9) Yanovsky J.F. – Comunicación personal.
- (10) Auger S.; Gomez G.; Dionisio G.; Oliva M.; Goin J.C. – Influencia de la presencia de anticuerpos antimuscarínicos M2, en el desarrollo de disautonomía y enfermedad cardiovascular en pacientes chagásicos – XXXVI Congreso Argentino de Cardiología – Octubre 2010.
- (11) Medei E.; Pedrosa R.C.; Benchimol Barbosa P.R.; Costa P.C.; Hernández C.C.; Chaves E.A.; Linhares V.; Masuda M.O.; Nascimento J.H.; Campos de Carvalho A.C. – Human antibodies with muscarinic activity modulate ventricular repolarization: Basis for electrical disturbance. *Int. Journal of Cardiology* 115(2007) 373-380.
- (12) Sterin-Borda L.; Joensen L.; Bayo-Hanza C.; Esteva M.; Borda E. – Therapeutic use of muscarinic acetylcholine receptor peptide to prevent mice Chagasic cardiac dysfunction – *J.Mol Cell Cardiol* 34, 1645-165 2002.
- (13) Hershko A.Y.; Naparstek Y – Removal of pathogenic autoantibodies by immunoadsorption. *Ann N.Y.Acad.Sci* 2005,1051:1635-646
- (14) Pinho Ribeiro A.L.P.; Diaz Giménez L.E.; Quintero Hernández C.C.; Campos de Carvalho A.C.; Martins Teixeira M.; Costa Guedes V.; Lins Barros M.V.; Lombardi F.; da Costa Rocha M.O. – Early occurrence of anti-muscarinic autoantibodies and

abnormal vagal modulation in Chagas disease – Int.Jour Of Cardiology 117 (2007) 59-63.

- (15) Marin-Neto J.A.;Rassi Jr. A. – Actualización sobre la cardiopatía de la enfermedad de Chagas en el primer centenario de su descubrimiento – Rev.Esp.Cardiología 2009; 62(11): 1211-6
- (16) Leon H.; Guzman J.C.;Morillo C.A. Revista Iberoamericana de Arritmología – Sep 2009 Vol.1 No 1 48-56
- (17) D.S. Andres, I.M. Irurzun, M.M. Defeo, E.E. Mola, J. Mitelman, L. Gimenez, et al  
Detecting Subclinical Alterations in Early Stages Of Chagas's Disease Through Holter”.  
Circulation 118, 12, e258 (2008)
- (18) Marin-Neto J.A.;Simoës M.V.; Rassi Junior A. - Pathogenesis of chronic Chagas cardiomyopathy: the role of coronary microvascular derangements – Revista da Sociedade de Medicina Tropical 46(5):536-541 Sep-Oct.2013

Dr Jorge E Mitelman  
Medico Cardiólogo Universitario  
Jefe de Cardiología Instituto Centenario CABA  
Prof. Titular IUCS Fundación HA Barceló  
Prosecretario Ciencia y Técnica IUCS-Fundación HA Barceló  
Fellowship SIAC  
Director Comité de Enfermedad de Chagas SIAC  
Presidente Liga de Lucha y Prevención Factores de Riesgo Cardiovasculares

Dra. Luisa Giménez  
Medica Cardióloga  
Coordinadora Programa de Chagas (Ciudad Autónoma de Bs As)  
Presidente Sociedad del Norte Bonaerense FAC  
Prof. adjunto IUCS Fundación HA Barceló  
Investigadora IUCS Fundación HA Barceló  
Fellowship SIAC

**Prof. Dr. Jorge Yanovsky,**  
Médico e investigador, fundador e integrante del [Grupo Biótica](#)  
y de la Asociación Carlos Chagas

Edgardo Schapachnik

Médico cardiólogo universitario recertificado

- Ex Jefe Sección Enfermedad de Chagas. División Cardiología. Hospital General de Agudos Dr. Cosme Argerich. CABA
- Ex Miembro Co-Fundador, Secretario Técnico, Científico y Director del Consejo Argentino de Enfermedad de Chagas de la Sociedad Argentina de Cardiología
- Presidente de la Asociación Civil Dr. Carlos Chagas para la Vigilancia Médica Activa de la Enfermedad de Chagas
- Asesor de la Dirección de Evaluación de Tecnologías Sanitarias del Ministerio de Salud del Gobierno de la CABA

Dr Gustavo R Monzón

**Médico Cirujano. Especialista en Cardiología, Hemodinamia, Cardiología Intervencionista y Terapéutica por Cateterismo. Miembro Pleno Fundador de la Sociedad Latinoamericana de Cardiología Intervencionista. Médico Asesor en Alta Complejidad del Colegio Médico Gremial del Chaco. Vicepresidente de la Asociación Civil Carlos Chagas para la Vigilancia Médica Activa del Mal de Chagas, con funciones de asesoramiento y supervisión externa, bioquímica, médico-cardiológica, informática y científica del Programa de Control de Chagas del In.S.S.Se.P. (Chaco).**

**Dr Andrés Mariano Ruiz**

Doctor en Ciencias Químicas, FCEyN, UBA 1983

Investigador con dedicación exclusiva en el Instituto Nacional del Diagnóstico e Investigación de la Enfermedad de Chagas 'Dr. Mario Fatala Chabén'. (INDIECH). Junio 1978 - Junio 1986

Profesor asociado en la Universidad de New York, Escuela de Medicina, (NYU). (1983-1986)

Jefe del Departamento de Investigación del INDIECH Junio 1986 - Agosto 1991.

Subdirector del INDIECH. Octubre 1992 -Octubre 1996, Marzo 2011 hasta la fecha.

Miembro de carrera de Investigador Científico del CONICET

Miembro de diversas comisiones evaluadoras de proyectos, investigadores, becarios y de unidades ejecutoras del CONICET.

Docente de la Maestría en Microbiología Molecular organizada por ANLIS Carlos Malbrán /Universidad Nacional de San Martín (UNSAM). Buenos Aires, 1998.

Docente de la Maestría en Salud Pública organizada por ANLIS Carlos Malbrán / Universidad Nacional de San Martín (UNSAM). Buenos Aires, 1998.

Director del Instituto Nacional de Parasitología Dr. Mario Fatala Chabén. Octubre 1996 – Marzo 2011.