



UADY

POSGRADO
INSTITUCIONAL
EN CIENCIAS
AGROPECUARIAS Y
MANEJO DE RECURSOS
NATURALES TROPICALES

**“CARACTERIZACIÓN DE ALTERACIONES
ECOCARDIOGRÁFICAS DE PACIENTES CANINOS
CARDIÓPATAS POSITIVOS A *TRYPANOSOMA
CRUZI*”**

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARA OBTENER EL
GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

POR:

**Médico Veterinario Zootecnista
Eduardo Ehécatl Ávalos Borges**

Directores:

PhD. Antonio Ortega Pacheco

POSGRADO INSTITUCIONAL
CIENCIAS AGROPECUARIAS Y MANEJO
DE RECURSOS NATURALES TROPICALES

Dr. Carlos Manuel Acevedo Arcique



Mérida, Yuc., México, septiembre del 2018



UADY
UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA
DE YUCATÁN

**COORDINACIÓN GENERAL
DEL SISTEMA DE POSGRADO,
INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN**

POSGRADO INSTITUCIONAL EN CIENCIAS
AGROPECUARIAS Y MANEJO DE RECURSOS
NATURALES TROPICALES

**ALUMNO: MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
EDUARDO EHÉCATL ÁVALOS BORGES**

SÍNODO DEL EXAMEN DE TESIS DE GRADO

**DR. EDUARDO GUTIÉRREZ BLANCO
CCBA-UADY**

**DR. JOSÉ ALBERTO ROSADO AGUILAR
CCBA-UADY**

**DRA. ANA PAULINA HARO ÁLVAREZ
CCBA-UADY**

**DR. MANUEL EMILIO BOLIO GONZÁLEZ
CCBA-UADY**

**DR. EDWIN GUTIÉRREZ RUIZ
CCBA-UADY**

MÉRIDA, YUCATÁN, SEPTIEMBRE DEL 2018

Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias
Km. 15.5 carretera a Xmatkuil | Teléfonos: 942 32 00, 02 y 04
Mérida, Yucatán, México | www.uady.mx

DECLARACIÓN DEL AUTOR

“El presente trabajo no ha sido aceptado o empleado para el otorgamiento de título o grado diferente o adicional al actual. La tesis es resultado de las investigaciones del autor, excepto donde se indican las fuentes de información consultadas. El autor otorga su consentimiento a la UADY para la reproducción del documento con el fin del intercambio bibliotecario siempre y cuando se indique la fuente”.

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue caracterizar las alteraciones ecocardiográficas de perros cardiopatas con infección natural por *T. cruzi*. Se realizó un estudio transversal a 130 perros domiciliados positivos a *T. cruzi* a los que se les realizó una ecocardiografía para medir los indicadores de estructura, función sistólica y diastólica del ventrículo izquierdo, e identificar patrones del flujo transmitral. Los animales se agruparon conforme a la presencia o ausencia de cardiomiopatía dilatada (CMD). Se determinó la frecuencia de las alteraciones en los indicadores, estos se compararon entre grupos, se analizó la asociación entre patrones de flujo y severidad de la enfermedad, y finalmente se calcularon los intervalos de predicción de 95% de cada variable. En el grupo sin CMD se encontró disminución del diámetro del ventrículo izquierdo en diástole (DVI_d) (33.91%), diámetro del ventrículo izquierdo en sístole (DVI_s) (35.65%), de la fracción de acortamiento (FA) (25.22%) y engrosamiento del septo interventricular en sístole (SIV_s) (20%). En perros con CMD se encontró dilatación del DVI_d (100%), del DVI_s (26.67%), engrosamiento del SIV_s (26.67%) y disminución de la FA (33.34%). Hubo diferencias significativas ($p < 0.05$) en el septo interventricular en diástole (SIV_d), DVI_d, pared del ventrículo izquierdo en diástole (PVI_d) y DVI_s. No se encontró asociación entre patrones de flujo y la severidad del daño por la enfermedad, y se determinó que el rango de valores del índice de predicción caracteriza los indicadores ecocardiográficos de estructura y función del ventrículo izquierdo de perros cardiopatas con infección natural por *T. cruzi*.

Key words: alteraciones ecocardiográficas, perro, *Trypanosoma cruzi*, ventrículo izquierdo, patrones de flujo

INDICE GENERAL

	Página
CAPITULO I	
1. INTRODUCCIÓN	1
CAPITULO II	
2. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 Epidemiología de la Tripanosomiasis Americana	3
2.1.1 Distribución y prevalencia	3
2.1.2 Agente etiológico	4
2.1.3 Vías de transmisión	7
2.1.4 Transmisión vectorial	7
2.1.4.1 Ciclo biológico de <i>T. cruzi</i> en el vector	8
2.1.5 Hospederos y reservorios	8
2.1.6 Aspectos medioambientales	10
2.2 Patogenia	10
2.3 Presentación clínica	13
2.3.1 Fase aguda	13
2.3.2 Fase crónica asintomática	14
2.3.3 Fase crónica sintomática	14
2.4 Diagnóstico	15
2.4.1 Técnicas de observación directa	15
2.4.2 Serología	15
2.4.3 Técnicas moleculares	16
2.4.4 Pruebas de gabinete	16
2.5 La ecocardiografía en la evaluación cardíaca	17
2.5.1 Principios de la ecocardiografía	17
2.5.2 Modo B	18
2.5.3 Modo M	18
2.5.4 Doppler espectral	19
2.5.5 Evaluación de la anatomía cardíaca	21

2.5.6 Determinación de la función cardíaca	22
2.5.6.1 Función sistólica	22
2.5.6.2 Función diastólica	26
2.6 La ecocardiografía en la investigación de la Tripanosomiasis Americana	29
3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	31
4. REFERENCIAS	32
CAPITULO III	
Artículo científico	40

INDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Tripomastigote sanguíneo en un frotis de sangre canina con tinción de Wright. Quistes o nidos de amastigotes en músculo cardíaco	5
Figura 2. Imagen de ecocardiografía en ventana paraesternal derecha, eje corto a nivel de músculos papilares, modo M, de las estructuras del ventrículo izquierdo.	21
Figura 3. Cálculo de la fracción de acortamiento (FA) mediante el método de Teichholtz	23
Figura 4. Imagen ecocardiográfica en ventana apical izquierda, vista de cuatro cámaras, modo B. Registro del flujo transmitral con Doppler pulsado para la determinación de la función diastólica del ventrículo izquierdo. El patrón de flujo es de relajación retardada	27
Figura 5. Imagen ecocardiográfica en ventana paraesternal derecha, eje largo, vista de cinco cámaras en modo B del corazón de un paciente con cardiomiopatía dilatada positivo a <i>T. cruzi</i> .	44
Figura 6. Imágenes ecocardiográficas comparativas en ventana paraesternal derecha, eje corto, a nivel de músculos papilares en modo M de las estructuras del ventrículo izquierdo y valores de Teichholz de perros cardiópatas positivos a <i>T. cruzi</i> .	47
Figura 7. Imagen ecocardiográfica en ventana apical izquierda, vista de cuatro cámaras en modo B de imagen ecocardiográfica con Doppler pulsado del flujo transmitral y cálculo de índice E/A en perros cardiópatas positivos a <i>T. cruzi</i> .	50

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Estudios sobre caracterización de alteraciones ecocardiográficas en individuos infectados con <i>T. cruzi</i>	30
---	----

Cuadro 2. Frecuencia de alteraciones en indicadores ultrasonográficos (modo M) en la estructura y función sistólica del ventrículo izquierdo en perros cardiópatas positivos a *T. cruzi* 45

Cuadro 3. Análisis de varianza de indicadores ultrasonográficos de las estructuras, función sistólica en modo M y función diastólica con Doppler pulsado del ventrículo izquierdo en perros cardiópatas positivos a *T. cruzi* 46

Cuadro 4. Intervalos de predicción de 95% para indicadores ultrasonográficos de las estructuras, función sistólica en modo M* y función diastólica con Doppler pulsado del ventrículo izquierdo en perros cardiópatas positivos a *T. cruzi* 48

ANEXO 1

Cuadro 5. Número de casos por grupo para cada combinación de método diagnóstico de *T. cruzi* 58

1. INTRODUCCIÓN

La Tripanosomiasis Americana es una enfermedad infecciosa causada por un protozoo flagelado y transmitida por vector del género *Triatominae* (Quiroz-Romero, 1990). Infecta al humano y a varias especies de mamíferos silvestres y domésticos incluyendo el perro (Kirchhoff, 2011). Aunque está presente en varios continentes, se distribuye principalmente en gran parte del continente americano, de forma particular en Centro y Sudamérica consideradas como regiones endémicas. En Yucatán, la enfermedad se ha detectado en perros tanto en zonas rurales como urbanas (Jiménez-Coello et al., 2008), donde se informa una prevalencia general de 12.2 % (Jiménez-Coello et al., 2015).

El agente causal de la Tripanosomiasis Americana es el *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*), hemoparásito flagelado perteneciente género *Trypanosomae* que mide de 16 a 20 μm de largo (Taylor et al., 2016) y se caracteriza por tener diversas cepas, actualmente clasificadas como unidades de tipificación discreta (DTU por sus siglas en inglés) (Zingales et al., 2012; Higuera et al., 2013; Guhl, 2016); las que difieren en patogenicidad, virulencia y localización en tejidos del hospedero, así como en distribución geográfica y asociaciones epidemiológicas. La DTU de mayor prevalencia en México y Centroamérica (Tcl) es cardiotrópica y altamente patogénica (Miles et al., 2009; Espinoza et al., 2010; Guhl, 2016).

Cuando *T. cruzi* infecta a humanos y perros, puede formar nidos en su estado de amastigote en los tejidos del sistema nervioso central, retículo-endotelial, músculo cardíaco y estriado. Esto ocasiona, en la fase crónica de la enfermedad, cardiomiopatía dilatada, arritmias ventriculares, endocarditis, endocardiosis valvular e insuficiencia cardíaca congestiva (Camacho y De Oliveira, 2007; Graiff, 2010; Rassi Jr. et al., 2010; Rassi y de Rezende, 2012).

La ecografía ha sido empleada para caracterizar las alteraciones ecocardiográficas en personas con Enfermedad de Chagas (Yacoub et al., 2003; García-Álvarez et al., 2010; Ramírez et al., 2010; Valerio et al., 2011), al igual que en diversos modelos animales (Carvalho et al., 2003; de Oliveira et al., 2016). En los caninos se han reportado algunos cambios ecocardiográficos en pacientes

infectados con *T. cruzi*, pero se han realizado con tamaños de muestra tan reducidos que tales anomalías no se pueden generalizar a toda la población (Barr et al., 1992; Meurs et al., 1998; Pascon et al., 2010). Por tanto, el objetivo de este trabajo fue caracterizar las alteraciones ecocardiográficas de perros cardiópatas con infección natural por *T. cruzi*.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Epidemiología de la Tripanosomiasis Americana

2.1.1 Distribución y prevalencia

La Tripanosomiasis Americana afecta a 8 millones de personas alrededor del mundo, principalmente en América Latina, donde es endémica en 21 países con cerca de 100 millones de personas viviendo en zonas de riesgo de infección. Anualmente se informan un total de 56 mil nuevos casos y 12 mil muertes (OPS y OMS, 2018). En México las cifras oficiales en el periodo de 2000 a 2013 reportaron 5463 casos entre agudos, crónicos e indeterminados, lo que representaba una incidencia ascendente de 0.07 a 0.7. De acuerdo con el mismo informe, las entidades con mayor número de casos son Veracruz (17.9%), Yucatán (14.8%) y Oaxaca (14.5%) (Secretaría de Salud, 2014b). En 2016, se notificaron casos en todos los estados de la república, con excepción de Baja California y Colima, lo que significó un aumento anual de 0.1 casos por cada 100 mil habitantes, alcanzando una incidencia de 0.9 en 2015 (Secretaría de Salud, 2016). Yucatán fue el estado más afectado entre 1999 y 2014 con 166 casos (Servicios de Salud de Yucatán, 2014), los que equivalen a una incidencia de 2.9 (Secretaría de Salud, 2016). En 2017 se reportaron en México 173 casos de Enfermedad de Chagas aguda y 560 en su presentación crónica, de los cuales, 7 y 50 respectivamente corresponden a Yucatán (Secretaría de Salud, 2018a).

La tasa de mortalidad en personas registrada en México ha sido estable, pues fluctuó entre 0.02 y 0.03 ± 0.1 defunciones por cada 100 mil habitantes en el período de 2000 a 2013 (Secretaría de Salud, 2014b), de 2014 a 2016 aumentó, de 0.03 a 0.05 (Secretaría de Salud, 2018b).

La enfermedad ha sido detectada en perros en Yucatán, tanto en zonas rurales como urbanas (Jiménez-Coello et al., 2008), donde se reporta una prevalencia general de 12.2% (Jiménez-Coello et al., 2015). Se desconoce la tasa de mortalidad por Tripanosomiasis Americana de perros en México.

2.1.2 Agente etiológico

El agente causal de la Tripanosomiasis Americana es el protozoo flagelado *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*). (Weese et al., 2011; Taylor et al., 2016). Este es un parásito que pertenece al phylum *Euglenozoa*, clase *Kinetoplasta*, orden *Trypanosomatida*, familia *Trypanosomatidae*, género *Trypanosomae*, y también es conocido como *Schizotrypanum cruzi*, *Trypanosoma lesourdi*, *Trypanosoma rhesii*, *Trypanosoma prowazeki*, *Trypanosoma vickersae* (Taylor et al., 2016) .

Los tripanosomas son organismos unicelulares con un solo núcleo ubicado cerca de la porción media de su cuerpo, el que típicamente tiene forma de huso con una membrana ondulante a lo largo de su eje y un flagelo que se origina en un organelo mitocondrial rico en ADN llamado kinetoplasto, que se aprecia como un abultamiento hipercromático ubicado en la porción anterior del parásito (Bowman, 2008; Taylor et al., 2016). De la porción anterior del kinetoplasto se origina una serie de micro túbulos que conforman el cuerpo basal del flagelo, estos se extienden a lo largo de la membrana ondulante hasta el extremo opuesto del parásito. Los túbulos flagelares se encuentran rodeados por una membrana, y juntos conforman el paquete flagelar (Bowman, 2008; Girard-Dias et al., 2012). En ocasiones el kinetoplasto es difícil de diferenciar del núcleo, ya que ambos contienen abundante ADN (Wheeler et al., 2012). Otros organelos presentes en los tripanosomas son el complejo vacuolar contráctil, complejo de Golgi, ribosomas, reservosomas y espongioma (Girard-Dias et al., 2012).

Durante su ciclo vital, *T. cruzi* presenta tres estadios: El tripomastigote, que a su vez se divide en dos categorías; el metacíclico o etapa infectiva en que el vector lo deposita en sus heces sobre el hospedero y trypomastogote sanguíneo (figura 1), cuando éste se disemina vía la sangre del hospedero. Los amastigotes (figura 1), que son estados quísticos y carentes de flagelo, que se depositan en los tejidos de los órganos blanco para multiplicarse. El tercer estadio es el epimastogote, forma en que se reproduce en el tracto digestivo del vector (Weese et al., 2011).

El parásito mide de 16 a 20 μm de largo en su fase de tripomastigote y 1.5 a 4 μm como amastigote (Taylor et al., 2016). La posición del kinetoplasto difiere entre

trypomastogote y epimastigote, en el primero se ubica posterior al núcleo, mientras que en el segundo se haya inmediatamente anterior (Bowman, 2008), Además, en el epimastigote se distingue una profunda invaginación de la membrana plasmática adyacente al paquete flagelar, conocida como citostoma, y a su continuación tubular hacia el interior de la célula se denomina citofaringe. Este complejo citostoma-citofaringe se separa del paquete flagelar por un segmento de membrana plasmática conocida como cresta oral. Al parecer la función de dicho complejo es la endocitosis de macromoléculas como transferrina, albúmina, peroxidasa y partículas de lipoproteínas de baja densidad. El citostoma-citofaringe también se observa en el amastigote, pero desaparece en la forma infectiva de tripomastigote (Alcantara et al., 2014).

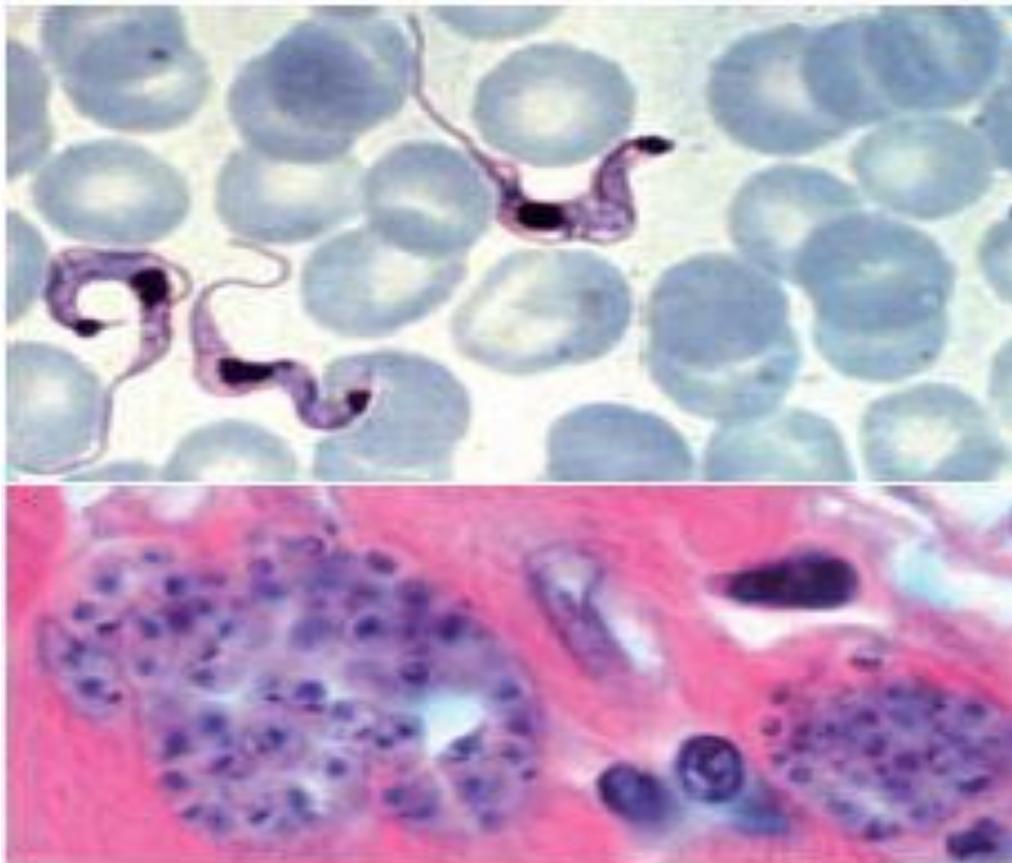


Figura 1. Tripomastigote sanguíneo (imagen superior) en un frotis de sangre canina con tinción de Wright. Quistes o nidos de amastigotes en músculo cardíaco (imagen inferior)
Tomado de: Bowman (2008)

Desde su descubrimiento en 1909 por Carlos Chagas (OMS, 2016), se han descrito diversas sub-poblaciones o cepas de *T. cruzi*. Al principio se agrupaban o clasificaban de acuerdo a criterios morfológicos, biológicos o al lugar donde se aislaban. Entre otras se conocen las cepas CA1, Tulahuén, Be62, Be78, San Felipe (SF), Boliviana, cepa Y, Colombiana, Berenice (Be 62 y Be78) y ABC (Graiff, 2010; Matta-Guedes et al., 2016). Debido a su variabilidad genética y la relación de ésta con la patogenicidad y sus características eco-epidemiológicas, la comunidad científica se ha dado a la tarea de homogenizar criterios para tipificar las cepas de *T. cruzi*, con el fin de tener las herramientas para un mejor entendimiento del parásito y su epidemiología con mira al control de la enfermedad (Zingales et al., 2012). Para lo cual, se han identificado marcadores o “etiquetas” moleculares a través de los cuales se le clasifica en 6 unidades de tipificación discreta o DTUs (por sus siglas en inglés), conocidos como Tc y numerados del I al VI (Zingales et al., 2009). A su vez el TcI tiene cinco genotipos denominados TcIa, TcIb, TcIc, TcId y TcIe (Ramírez et al., 2010). La tipificación se basa en la secuenciación de tres marcadores moleculares: 24S α rDNA, la proteína de choque térmico 60 o HSP60 (por sus siglas en inglés) y el loci glucosa-6-fosfato isomerasa o GPI (Zingales et al., 2012). Los DTUs difieren entre sí, tanto en patogenicidad, virulencia y localización en tejidos del hospedero, como en distribución geográfica y asociaciones epidemiológicas (Higuera et al., 2013; Guhl, 2016). Sin embargo, el tropismo del parásito no sólo depende del DTU implicado, hay también factores intrínsecos del hospedero que lo determinan como sexo, edad, especie, raza, estado inmunológico y nutricional. De manera general son más susceptibles los individuos jóvenes, machos o de sexo masculino en caso del sujeto humano, así como pacientes inmunodeprimidos y desnutridos (Graiff, 2010).

En México y Centroamérica el DTU con mayor prevalencia es TcI (Miles et al., 2009; Guhl, 2016), y se ha demostrado que es cardiotrópico y altamente patogénico (Miles et al., 2009; Espinoza et al., 2010; Guhl, 2016).

2.1.3 Vías de transmisión

La principal forma de transmisión es por contacto con las heces de insectos triatomíneos hematófagos infectados, quienes defecan mientras se alimentan del hospedero y cuando éste se rasca en el sitio del piquete permite que las heces contaminen las escoriaciones auto infringidas en la piel o mucosas (Kirchhoff, 2011; Weese et al., 2011; Snowden y Budke, 2013; Rodrigues-Coura, 2015; OMS, 2016; Taylor et al., 2016) Otras vías de transmisión reportadas son la transfusión sanguínea o trasplante de órganos infectados, transplacentaria de madre a hijo durante la gestación o el parto, por accidente de laboratorio y vía oral, por el consumo directo del vector o de alimento contaminado con sus excretas (Kirchhoff, 2011; Weese et al., 2011; Rodrigues-Coura, 2015; OMS, 2016).

Desde hace algún tiempo se conoce otra vía de contagio, que es la transmisión directa a través de las secreciones de las glándulas odoríferas (sacos anales) de las zangüeyas cuando estos fluidos entran en contacto con las mucosas, extremidades y alimento de otros animales y el hombre (Naiff et al., 1987; Valente-da Silva et al., 1999; Herrera y Urdaneta-Morales, 2000); ya que de tales órganos se han aislado epimastigotes y tripomastigotes meta cíclicos con capacidad infectiva (Deane et al., 1984; Jansen et al., 1991).

2.1.4 Transmisión vectorial

Los vectores involucrados en la transmisión de la enfermedad pertenecen al orden *Hemiptera*, familia *Reduviidae*, subfamilia *Triatominae*, géneros *Rhodnius*, *Panstrongylus* y *Triatoma* (Secretaría de Salud, 2015a), aunque los géneros *Meccus*, *Belminus*, *Dipetalogaster*, *Eratyrus* y *Paratriatoma* también se reportan como transmisores (Salazar Schettino et al., 2010). En el continente americano las principales especies conocidas como transmisoras son: *Triatoma infestans*, *Panstrongylus megistus*, *Rhodnius prolixus*, *T. dimidiata*, *T. brasiliensis*, *T. pseudomaculata*, *T. sordida*, *T. maculata*, *P. geniculatus*, *R. ecuadoriensis* y *R. pallenscens* (Rodrigues-Coura, 2015). En México, de las 31 especies de la subfamilia *Triatominae*, 19 del género *Triatoma* se han encontrado infectados naturalmente por *T. cruzi*, entre las que destacan *T. longipennis*, *T. mexicana* y *T. barberi* (Ramsey et

al., 2015); también se reporta a *Meccus bassolsae*, *M. longipennis*, *M. mazzottii*, *M. pallidipennis*, *M. phyllosomus*, *M. picturatus*, *T. gerstaeckeri*, *T. rubida*, *Dipetalogaster máxima*, *P. rufotuberculatus* y *R. prolixus* (Licón-Trillo et al., 2010; Salazar Schettino et al., 2010; Martínez-Ibarra et al., 2016), siendo *T. dimidiata* la especie más dispersa en el país y la predominante en la península de Yucatán, donde también se reporta (en el estado de Campeche) a *P. rufotuberculatus* (Salazar Schettino et al., 2010). De la primera especie (*T. dimidiata*) se han identificado en la entidad dos grupos taxonómicos y sus híbridos (Herrera-Aguilar et al., 2009).

La capacidad de dispersión del vector influye directamente sobre la transmisión de la enfermedad, a su vez tal habilidad de dispersarse depende de características anatómicas como el largo de las alas; al respecto, un estudio realizado en Yucatán (Nouvellet et al., 2011), encontró que las dimensiones del ala en *T. dimidiata* está influenciada por el sexo y el estatus infectivo del vector, así pues la alas son más grandes en hembras que en machos y en individuos infectados con *T. cruzi* que en aquellos que no lo están.

2.1.4.1 Ciclo biológico de *T. cruzi* en el vector

El triatomino se contamina con *T. cruzi* exclusivamente al alimentarse de un mamífero infectado en etapa de parasitemia, ya que no es posible la transmisión vertical. El protozoo es ingerido en forma de tripomastigote sanguíneo y al llegar al intestino se transforma en epimastigote. En este estadio se multiplica en grandes cantidades por fisión binaria y al llegar a la porción inferior del tracto digestivo del insecto se vuelve a transformar, ahora en tripomastigote meta cíclico, que es la forma en que se elimina por las heces, para comenzar el ciclo infectivo al picar a algún mamífero para alimentarse de su sangre como ya se ha descrito (Kirchhoff, 2011; Weese et al., 2011).

2.1.5 Hospederos y reservorios

De acuerdo a Romero-López y Martínez-Maya (2010), un hospedero es un animal vivo que de manera natural permite que un agente infeccioso se aloje y

circule en él, sufriendo o no la infección de dicho agente; por otro lado, se considera como reservorio de una enfermedad, a aquel hospedero que es capaz de mantener por largo tiempo las poblaciones del agente etiológico en un ecosistema, que presenta cargas parasitarias que garantizan su transmisibilidad y que tiene una densidad poblacional apropiada que facilite el encuentro hospedero-vector, hospedero-ambiente o hospedero-hospedero según el tipo de transmisión (Herrera, 2010). Desde este punto de vista, tanto el perro como el humano son susceptibles a *T. cruzi* y capaces de alojarlo durante largos períodos de tiempo (Camacho y De Oliveira, 2007; Rassi y de Rezende, 2012; OMS, 2016), por lo que se pudiese suponer que ambos son hospederos definitivos, ya que se sabe que la fase transmisible al vector (tripomastigote sanguíneo) sólo circula en sangre durante la etapa aguda de la infección, pues en la crónica permanece formando quistes o nidos (amastigotes) en los tejidos (Graiff, 2010; Rassi Jr. et al., 2010). Sin embargo, si se considera la capacidad del parásito para reactivarse, bajo ciertas circunstancias, y volver a la circulación aún en la fase crónica (Rassi y de Rezende, 2012; Salvador et al., 2015), ambos puedan considerarse también como reservorios.

De los mamíferos domésticos el perro, puede ser el principal reservorio de la Tripanosomiasis Americana (Jiménez-Coello et al., 2010b; Weese et al., 2011; da Fonseca-Fernandes et al., 2016), aunque el gato también puede tener esa función (Jiménez-Coello et al., 2012). En ambos, es importante la infección vía ingesta del vector o de otros reservorios como roedores haciendo posible la reinfección continua, motivo por lo que suele existir una desproporción entre casos positivos de perros y personas que viven en una misma zona (Jiménez-Coello et al., 2010a; da Fonseca-Fernandes et al., 2016).

Entre los animales silvestres se ha demostrado la presencia de *T. cruzi* en 180 especies de mamíferos de los órdenes *Didelphidomorphia*, *Lagomorpha*, *Chiroptera*, *Rodentia*, *Pilosa*, *Cingulata*, *Carnivora*, *Primata*, *Perisodactyla* (Herrera, 2010; Kirchhoff, 2011; Rodrigues-Coura, 2015). En Yucatán la zarigüeya (*Didelphys virginiana*) tiene un papel destacado como reservorio sinantrópico, con una prevalencia de 53.9% (Ruiz-Piña y Cruz-Reyes, 2002).

2.1.6 Aspectos medioambientales

La transmisión vectorial a las personas y animales domésticos se da principalmente cuando invaden el hábitat natural del vector y los reservorios silvestres, o cuando estos invaden áreas domésticas. Este traslape de hábitats permite que la enfermedad pueda transmitirse también entre mamíferos silvestres y domésticos, e inclusive del hombre a estos (Rodrigues-Coura, 2015).

Un factor importante para la sobrevivencia del vector y su subsecuente capacidad de transmitir la enfermedad es la temperatura. Se sabe que al no tener centro termorregulador los triatominos dependen de la temperatura ambiental, por lo que el rango ideal para su desarrollo es entre 26 y 30 °C. (Salazar Schettino et al., 2010; Martínez-Ibarra et al., 2016). Los materiales de construcción y las condiciones de higiene también influyen en la sobrevivencia y capacidad de adaptación del vector a la vivienda humana, esto en función de la oportunidad dada al insecto de encontrar madrigueras y temperaturas adecuadas para su desarrollo. En general, las casas construidas con materiales rústicos (madera, palma, adobe, suelos de tierra) y la presencia de bardas de piedra, vegetación silvestre en el peridomicilio, y hasta el alumbrado público, perpetúan la infestación de *T. dimidiata* (Dumonteil et al., 2013; Zamora et al., 2015).

Se ha determinado que los perros que pernoctan y/o que habitan fuera de la casa tienen mayor oportunidad de ser picados por *T. dimidiata* (Jiménez-Coello et al., 2015), de manera especial si la vivienda tiene las características arriba descritas o se ubica dentro o rodeada de zonas silvestres.

2.2 Patogenia

Una vez que el parásito entra al hospedero, comienza a circular en el torrente sanguíneo al invadir a los macrófagos, diseminándose así por todo el organismo (Vitt et al., 2016). Los tripomastigotes se adhieren a éstos mediante moléculas de adhesión intercelular solubles en el suero (s-ICAM) y moléculas solubles de adhesión vascular (s-VCAM). La entrada al macrófago se da mediante el reconocimiento ligando receptores, a través de moléculas tipo lectina y receptores

de la familia de las integrinas, específicamente la Fibronectina (Fn), que actúa como puente (Paláu, 2016).

En los macrófagos los tripomastigotes de *T. cruzi* pueden transformarse en amastigote y multiplicarse por fisión binaria (Weese et al., 2011). La unión de los estados de amastigotes a macrófagos es facilitada por moléculas receptoras de Manosa y otras proteínas tipo lectinas. Para su transformación y la subsecuente multiplicación intracelular se requiere de una molécula conocida como cruzipain, que es una proteasa de cisteína producida por el parásito (Paláu, 2016). Después de multiplicarse, los amastigotes se transforman nuevamente en tripomastigotes, entonces modulan la apoptosis, adelantándola o propiciándola, con el fin de romper los macrófagos que los albergan y facilitar su liberación de nuevo a la circulación (Weese et al., 2011; Paláu, 2016).

Los tripomastigotes circulantes infectan principalmente el miocardio. Para su entrada en este tipo de células no solo interviene la Fn, también actúan receptores colinérgicos y adrenérgicos en mioblastos y células cardíacas respectivamente, incluso se encuentra la Penetrina que promueve la adhesión del tripomastigote a la matriz extracelular (Paláu, 2016). Este proceso puede ocurrir también en tejido nervioso, linfático, hepático, esplénico, gastrointestinal y adrenal (Vitt et al., 2016).

Al entrar el tripomastigote en la célula hospedera es rodeado por una estructura conocida como vacuola parasitófora, que se forma debido a la estrecha unión entre las membranas celular y lisosomal en el sitio donde se adhiere la membrana del parásito. La sobrevivencia de éste en parte se debe a moléculas ancladas a su membrana por el glycosil-phosphatidil-inositol (GPI), tales como las glicoproteínas gpS2 y gp90. Una vez dentro de la vacuola parasitófora, *T. cruzi* escapa de ella al secretar una toxina formadora de poros conocida como TC-TOX, la cual no es tóxica para el mismo agente debido a la acción de la neuraminidasa que transfiere uniones alfa del ácido siálico de la célula a la membrana parasitaria, haciéndola resistente a su misma TC-TOX. Se sabe que la neuraminidasa también deprime la acción de las células del sistema inmune del hospedero. Otros factores que permiten a *T. cruzi* establecerse en las células blanco son la interferencia en la

combustión respiratoria del fagocito, ya sea neutralizando los derivados tóxicos del oxígeno cuando se forman o inhibiendo la actividad de su combustión respiratoria, que da como resultado inhibición de la síntesis de óxido nítrico (NO), la falta del cual hace a los macrófagos incapaces de destruir organismos intracelulares (Paláu, 2016).

Una vez dentro de las células cardíacas, los tripomastigotes se transforman nuevamente en amastigotes, los cuales pueden formar pseudo quistes. Al parecer, las excretas de los amastigotes (Co², acetato y succinato) causan daño tóxico en el hospedero (Camacho y De Oliveira, 2007), lo que produce una respuesta inmunomediada que provoca degeneración del tejido cardíaco y sustitución de este por fibras de colágeno (Guedes et al., 2007; Garzoni et al., 2008; Cunha-Neto et al., 2011). Sin embargo, se sabe que, en pacientes humanos inmunosuprimidos por otras infecciones, neoplasias o enfermedades autoinmunes, los amastigotes pueden reactivarse, transformarse en tripomastigotes, romper las células que los albergan y volver a la circulación (Rassi y de Rezende, 2012; Salvador et al., 2015).

Los tripomastigotes pueden detectarse en frotis sanguíneos tan temprano como a los 3 días post infección y a los 14 días llegan a los tejidos transformándose en amastigotes; la parasitemia alcanza su pico a los 17 días (Vitt et al., 2016). La parasitemia disminuye al momento que la respuesta humoral y celular del hospedero aumenta, es entonces cuando se inicia la etapa crónica. Los individuos que no son capaces de generar esta respuesta inmune, generalmente mueren al no poder controlar la infección (Graiff, 2010), pues se ha visto que cargas parasitarias mayores a 2000 tripomastigotes por kg de peso del hospedero son mortales (Quijano-Hernández et al., 2012).

La respuesta humoral primaria se inicia con la producción de IgA e IgM desde la segunda semana post infección, los niveles de estas descienden a la decimoquinta y vigésima semanas respectivamente. La IgG se detecta entre la segunda y cuarta semanas, ascendiendo de forma continua hasta la trigésima cuando se mantiene estable durante la fase crónica. Este comportamiento parece

ser independiente de la cepa (Guedes et al., 2007), pero puede alterado por la carga parasitaria o dosis infectiva (Quijano-Hernández et al., 2012).

El control parasitario y la supervivencia del hospedero dependen de tres factores: La inmunidad mediada por células, que proveen un efecto protector con respuesta de anticuerpos; la activación de macrófagos por acción del interferón gamma (IFN) para provocar la muerte intracelular del parásito y los mecanismos efectores dependientes de moléculas clase I. Hoy se sabe que el IFN gamma, IL2 y TNF producido por células Th1 tiene un papel protector relacionado con la resistencia, mientras que las linfoquinas IL10 y IL4 producidas por Th2 favorecen la infección, pues para evitar la muerte parasitaria, *T. cruzi* es capaz de inducir la producción de estas citosinas por el hospedero (IL 10 y TGF- β), inhibiendo la acción trypanomicida de los macrófagos activados (Paláu, 2016).

2.3 Presentación clínica

2.3.1 Fase aguda

En el humano durante la fase aguda de la enfermedad se puede presentar un cuadro de miocarditis aguda y/o meningoencefalitis, que en el 10% de las ocasiones es mortal (Secretaría de Salud, 2016), los síntomas clínicos más frecuentes son fiebre, cefalea, linfomegalia, palidez, mialgia, distress respiratorio, distensión y dolor abdominal o torácico (OMS, 2016).

La infección en los perros también causa miocardiopatías. En la etapa aguda los parásitos (en etapa de amastigote) pueden encontrarse principalmente en el miocardio, pero también han sido aislados en cerebro, linfonodos, líquido cefalorraquídeo, hígado, bazo, tracto gastrointestinal y glándulas adrenales. En corazón se reporta severa pancarditis linfoplasmocítica e histiocítica necrotizante en ambos atrios y ventrículos, lo que provoca dilatación cardiaca derecha, taquicardia supra ventricular, bloqueo de rama izquierda, taquicardia ventricular sostenida y disfunción sistólica (Vitt et al., 2016).

La forma digestiva se ha estudiado en modelos murinos. Durante la fase aguda se observan cambios inflamatorios degenerativos y necrosis de las células musculares inducida por la inflamación (Campos et al., 2016).

2.3.2 Fase crónica asintomática

La etapa crónica asintomática puede durar toda la vida del paciente (60% de los casos) o tener una duración de entre 15 a 20 años antes de pasar a la fase crónica sintomática (Secretaría de Salud, 2016). En los perros ocurre una situación similar, los cambios en el corazón se van sucediendo de forma silenciosa durante algunos meses a años (Camacho y De Oliveira, 2007), mientras el daño causado por el parásito produce una respuesta inmunomediada que provoca degeneración del tejido cardíaco y sustitución de este por fibras de colágeno (Guedes et al., 2007; Garzoni et al., 2008; Cunha-Neto et al., 2011).

2.3.3 Fase crónica sintomática

En humanos durante ésta fase, dependiendo de la cepa de *T. cruzi* presente, puede desarrollarse un cuadro clínico cardíaco y/o digestivo (Higuera et al., 2013). En el humano 10% de los pacientes crónicos presenta alteraciones digestivas (megaesófago y megacolon), neurológicas o mixtas; mientras que 30% presentan el cuadro cardíaco (OMS, 2016), el cual consiste en disfunción contráctil del miocardio y arritmias altamente emboligénicas, que luego evoluciona en una cardiomiopatía dilatada e insuficiencia cardíaca congestiva (Secretaría de Salud, 2016).

En los pacientes caninos también se reportan arritmias ventriculares, endocarditis, endocardiosis valvular e insuficiencia cardíaca congestiva. Se cree que la arritmia es debida a pérdida de ganglios parasimpáticos atriales y fibras neuronales del haz de His (Graiff, 2010). Debido a la degeneración y fibrosis ya mencionada, se desarrolla atrofia de músculos papilares y anillos valvulares, que desencadena la insuficiencia valvular. El miocardio disminuye su contractibilidad, lo que adicionado a los mecanismos compensatorios cardiovasculares, crea un aumento de la precarga que da como resultado, en la fase terminal de la etapa

crónica, la cardiomiopatía dilatada (Camacho y De Oliveira, 2007). Estas alteraciones provocan disfunción diastólica y sistólica como se observa en perros con cardiomiopatía dilatada primaria, en los que se reporta disminución del flujo atrio-ventricular y reducción en las fracciones de eyección y acortamiento (Chetboul, 2016).

. El cuadro digestivo en etapa crónica se caracteriza por inflamación focal en los plexos de Auerbach, pérdida de neuronas y disminución de la densidad de haces de nervios intramusculares, lo que causa el típico megacolon y megaesófago (Campos et al., 2016).

2.4 Diagnóstico

2.4.1 Técnicas de observación directa

En el diagnóstico de la Tripanosomiasis Americana se deben considerar algunas técnicas o pruebas diagnósticas junto con los síntomas y la historia clínica (Weese et al., 2011). En la etapa aguda los tripomastigotes sanguíneos pueden ser observados directamente mediante frotis de sangre o de centrifugados de la capa flogística (método de Strout) con tinción de Giemsa (Weese et al., 2011; Secretaría de Salud, 2014a; Secretaría de Salud, 2015b; Vitt et al., 2016).

El xenodiagnóstico también se emplea para identificar la presencia del agente, el cual consiste en utilizar ninfas de vectores no infectados como medio de cultivo del parásito. Los triatominos succionan la sangre del paciente sospechoso y en los días 10, 15, 30 y 60 post succión se analizan sus excretas en busca de tripomastigotes meta cíclicos, ya que el ciclo de *T. cruzi* en el vector es de 2 a 4 semanas (Graiff, 2010). El hemocultivo también es una técnica empleada para el diagnóstico directo de la enfermedad (Secretaría de Salud, 2015b), la cual consiste en incubar el paquete celular del paciente sospechoso a 26-28°C, con la posterior revisión de los cultivos en los mismos períodos del xenodiagnóstico (Graiff, 2010).

2.4.2 Serología

La serología es considerada el método de oro para el diagnóstico de Tripanosomiasis en la etapa crónica de la enfermedad (Weese et al., 2011), ya que

se trata de técnicas que están dirigidas a detectar anticuerpos contra antígenos de superficie y citoplasmáticos (Graiff, 2010). Las pruebas a emplear son ELISA, inmunofluorescencia indirecta (IFI), hemoaglutinación indirecta (HAI) e inmuno electro transferencia o Western blot (Secretaría de Salud, 2014a; Secretaría de Salud, 2015b). ELISA y HAI son sugeridas como pruebas de tamizaje, la sensibilidad y especificidad de la primera dependen de la composición antigénica (totales o recombinantes) y la fuente del antígeno, mientras que la segunda es altamente sensible pero poco específica. IFI por su alta especificidad se usa como segundo paso para resolver discrepancias, mientras que Western blot (sensibilidad y especificidad elevada) debe usarse con muestras de alto grado de dificultad cuando después de correr las anteriores todavía existiese duda (Secretaría de Salud, 2014a).

2.4.3 Técnicas moleculares

En la actualidad ya se cuenta con pruebas moleculares que además de ser altamente sensibles y específicas, son rápidas y permiten identificar hasta el 25% del material genético de un solo parásito en el hospedero, tal es el caso del PCR, la que además tiene la ventaja de no producir reacciones cruzadas con otros hemoflagelados (Graiff, 2010), sin embargo cuando no hay parasitemia, como en la etapa crónica, es posible que esta prueba no detecte los casos positivos, por lo que debe complementarse con alguna de las serológicas. Debido a esto se recomienda usarse en casos de infección congénita y en investigación (Secretaría de Salud, 2014a).

2.4.4 Pruebas de gabinete

Las pruebas de gabinete se han empleado para tratar de determinar cambios asociados a la infección en el humano como en modelos animales. El primero en usarse ha sido la electrocardiografía o electrocardiograma (ECG). Estudios en personas han encontrado gran diversidad de alteraciones que van desde bloqueos de diversos grados en ambas ramas, bloqueo fascicular anterior y posterior, ritmo ventricular prematuro, diversos grados de bloqueo atrio-ventricular, bradicardia sinusal, cambios en segmento ST, ondas Q anormales, complejo QRS de bajo

voltaje, fibrilación atrial, arritmias y taquicardias ventriculares (Ramírez et al., 2010; Valerio et al., 2011; Weese et al., 2011). En perros se reportan el mismo tipo de anomalías que en personas, pero tampoco se ha encontrado un patrón consistente que pueda por sí solo ser predictivo o sugerente de la enfermedad (Barr et al., 1992; Meurs et al., 1998; Graiff, 2010; Pascon et al., 2010; Quijano-Hernández et al., 2012).

2.5 La ecocardiografía en la evaluación cardíaca

2.5.1 Principios de la ecocardiografía

En cardiología la ultrasonografía es una importante herramienta de apoyo al examen físico y la auscultación, complementaria a las demás técnicas de diagnóstico (electrocardiografía y rayos x), pues presenta ventajas importantes sobre estas, ya que permite observar la estructura interna, el flujo de la sangre y el movimiento de las diferentes partes que conforman al corazón y al sistema vascular (Fuentes, 2008).

El sonido se propaga longitudinalmente en un medio como oscilaciones cíclicas que forman ondas, cuya distancia entre una y otra se conoce como longitud de onda. El número de ciclos que se completan en un segundo se denomina frecuencia de la onda de sonido (Boon, 2010). El ultrasonido se basa en la emisión de ondas sonoras de alta frecuencia mayores a 20 mil ciclos por segundo (por encima del rango audible para el humano) generadas desde la punta de la sonda por material piezo eléctrico en el transductor, el cual puede emitir ultrasonidos a una sola o a varias frecuencias y hace las veces de emisor y receptor de las ondas. Éstas atraviesan los distintos medios y tejidos a velocidades que varían entre estos dependiendo de su densidad, las cuales al rebotar en los órganos generan ecos que regresan al transductor para ser transformados por el equipo y expresados gráficamente de diversas formas o modos. En general, mientras más denso es un tejido se observa más brillante o ecogénico en la pantalla (hueso, litos) y mientras menor sea su densidad se aprecia más oscuro o anecoico (agua o sangre) (Nyland y Mattoon, 2002). Los modos del ultrasonido son conocidos como modo B o bidimensional, M o de tiempo de movimiento y el Doppler espectral, que está basado

en el fenómeno descrito por Christian Johann Doppler en 1842 (Gross, 2009). el que a su vez se divide en pulsado, continuo y color principalmente (Boon, 2010).

El barrido torácico para la evaluación cardiaca se realiza desde tres ventanas: paraesternal derecha (entre el 3° y 6° espacios intercostales), paraesternal izquierda (espacios 3° y 4°) ambos entre la unión costo condral y el esternón; y apical izquierda (5° a 7° espacio). También hay tres cortes o ejes en que se observa el corazón, el longitudinal o eje largo, transversal o eje corto y el apical desde la punta del ventrículo izquierdo hasta la base cardiaca. De estos pueden obtenerse diversas vistas de la estructura interna como las de 4 y 5 cámaras, las de la base cardiaca a nivel de tracto de salida del ventrículo derecho, de la válvula aórtica y atrio izquierdo, de la válvula mitral o del ventrículo izquierdo a nivel de los músculos papilares (Ferraris, 2007; Boon, 2016).

2.5.2 Modo B

Este modo es el de uso general en ultrasonografía. Se caracteriza por presentar imágenes bidimensionales de la anatomía interna de los órganos (Nyland y Mattoon, 2002; Boon, 2010) y permite observar en tiempo real el movimiento y deformaciones de sus estructuras (de Madron et al., 2016).

Su aplicación en cardiología es evaluar la anatomía (morfología valvular y grosor de las paredes), lesiones cardiacas como masas o defectos en septos y paredes (interventriculares, atriales o vasculares), anormalidades en la geometría de las cámaras y del movimiento de las paredes, presencia de parásitos (*Dirofilaria spp.*) y efusiones pericárdicas o pleurales (Fuentes, 2008; Boon, 2016).

2.5.3 Modo M

Las imágenes en este modo representadas como un gráfico de distancia-tiempo. Posee mayor resolución que el modo B (Ferraris, 2007; Fuentes, 2008).

Su utilidad en cardiología está en que permite realizar medidas de las estructuras y cámaras en los distintos momentos del ciclo cardíaco, por lo que es valiosa para evaluar atrios, ventrículos, comparar el atrio izquierdo con la aorta y a los ventrículos entre sí, registrar el movimiento y cierre de las válvulas (mitral y

aórtica) o medir la frecuencia cardíaca (Ferraris, 2007; Boon, 2010; de Madron et al., 2016).

2.5.4 Doppler espectral

Según el principio Doppler, cuando se transmiten ondas sonoras a una determinada frecuencia contra un blanco estático, éstas retornan a la misma frecuencia con la que fueron emitidas; pero si el blanco es móvil, la frecuencia se incrementa si el objeto se acerca a la fuente emisora, o decrece cuando el objeto se aleja. A esta diferencia entre frecuencias se le conoce como desviación Doppler o Doppler shift (Ferraris, 2007; Boon, 2010; de Madron et al., 2016).

En ecografía cardíaca este modo es altamente útil para determinar el movimiento y dirección del flujo sanguíneo, lo que permite medir la velocidad y el tiempo al que se mueven las células sanguíneas, pudiéndose calcular a partir de esto las características de la eyección y gradientes de presión entre las cámaras cardíacas y grandes vasos (Boon, 2010).

Doppler pulsado

Obtiene su nombre de la forma como el transductor genera los ecos, de manera intermitente o “pulsada”, alternando su función de emisor y receptor de las ondas de ultrasonido. Permite medir el flujo en un punto específico denominado volumen de muestra (Ferraris, 2007).

El flujo sanguíneo se representa como líneas curvas en un plano cartesiano o flujo laminar, donde el eje horizontal representa el tiempo y el vertical la velocidad. Si el flujo se acerca al transductor, la curva será positiva (por encima del eje horizontal) y si se aleja es negativa (por debajo del eje). El espacio bajo la curva se conoce como ventana espectral y se aprecia vacía (anecoica) si el flujo es unidireccional, si hay remolinos o turbulencia en el flujo, la ventana se vuelve ecogénica (de Madron et al, 2016). Cuando la velocidad de retorno al transductor es mayor que la mitad de la frecuencia de repetición de pulso (límite de Nyquist) se forma un artefacto denominado aliasing que se observa como ondas con ventana espectral ecogénica que ocupan tanto los planos positivos como negativos a partir

del eje horizontal, fenómeno que también se aprecia si las velocidades del flujo son tan altas que superan el límite del plano vertical; por lo que este modo no es de utilidad en flujos de alta velocidad (Ferraris, 2007).

El Doppler pulsado permite medir la velocidad de flujo (máxima y media), tiempos de aceleración y desaceleración, tiempo total de eyección, integral de velocidad de flujo o volumen de eyección y, mediante la ecuación de Bernoulli, los gradientes de presión entre cámaras (de Madron et al., 2016). A través de estas medidas se pueden detectar anomalías como estenosis en los conductos atrio-ventriculares y en los tractos de salida aórticos y pulmonares; también ayudan a detectar algunas anomalías funcionales del miocardio (Ferraris, 2007; Boon, 2010; de Madron et al., 2016).

Doppler continuo

A diferencia del pulsado, en este modo las ondas acústicas son generadas de forma continua, lo que permite registrar flujos de alta velocidad, pero no se puede elegir un punto específico de medición, sino que se detecta el movimiento a todo lo largo de la línea donde se dirija la onda de sonido. No se observa ventana espectral vacía puesto que detecta el movimiento tanto de las partículas que se mueven en el centro del vaso o cavidad como en los bordes o paredes (Ferraris, 2007).

Doppler color

Se trata de un Doppler pulsado que se representa gráficamente con códigos de colores. Se utiliza en tiempo real en modo B y al igual que el pulsado posee un volumen de muestra ajustable al área de interés. De manera convencional, los flujos que se acercan al transductor se codifican en color rojo (equivalente al flujo positivo en el pulsado) y los que se alejan en azul (flujo negativo). Cuando existen flujos retrógrados o regurgitaciones que provocan turbulencia se aprecian mosaicos de color que varían de amarillo a verde en contraflujos positivos y de blanco a azul celeste en los negativos. Como puede observarse, su principal utilidad es en la detección de flujos turbulentos o de regurgitación (Boon, 2010).

2.5.5 Evaluación de la anatomía cardíaca

Para evaluar anatómicamente las estructuras, cámaras y válvulas se pueden utilizar los modos M y B; sin embargo, el primero es la manera más precisa de medir el grosor de paredes y el diámetro de las cavidades, para lo cual, y con la finalidad de obtener medidas confiables, el cursor o línea de corte deben alinearse en un ángulo de 90° con la estructura de interés, con un rango de tolerancia de 20°. De esta forma es posible conocer el diámetro ventricular (Figura 2), atrial, aórtico e incluso el pulmonar, tanto en diástole como en sístole (Boon, 2016; de Madron et al., 2016).

En el modo B se pueden medir algunas estructuras de geometría compleja como los atrios o la longitud base-ápex del ventrículo izquierdo, o secciones de

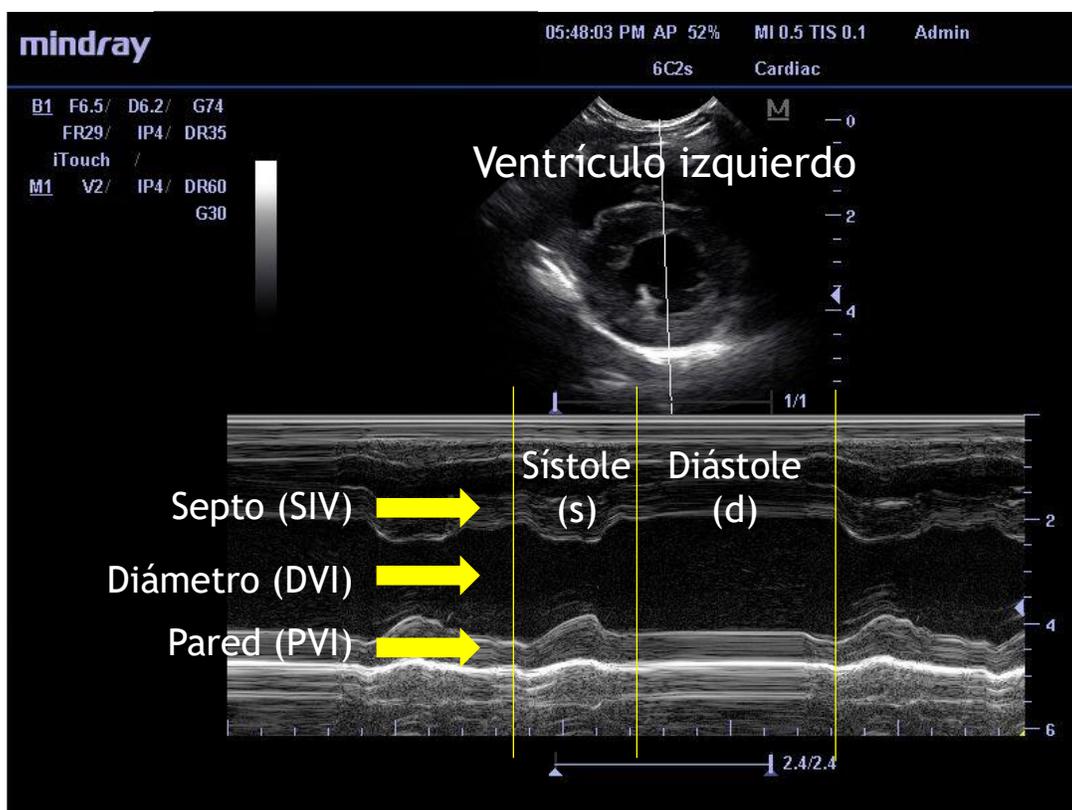


Figura 2. Imagen de ecocardiografía en ventana paraesternal derecha, eje corto a nivel de músculos papilares, modo M, de las estructuras del ventrículo izquierdo. Se observan el septo interventricular (SIV), el espacio interno o diámetro ventricular (DVI) y pared del ventrículo (PVI) en ambos momentos del ciclo cardíaco (sístole y diástole).

estas dos últimas; así como la relación o índice atrio izquierdo/aorta (de Madron et al., 2016).

Existen valores de referencia de las medidas, índices y proporciones de las estructuras y cavidades cardíacas en perros y gatos, la mayoría basadas en el peso, raza o superficie corporal (Boon, 2010; de Madron et al., 2016), aunque también se han realizado estudios desde un enfoque alométrico (Cornell et al., 2004), el cual homogeniza o “normaliza” los valores de las estructuras del ventrículo y atrio izquierdos y la aorta, eliminando la necesidad de tablas específicas para raza o peso (Boon, 2010; de Madron et al., 2016; Tidholm et al., 2017; Vezzosi et al., 2017).

2.5.6 Determinación de la función cardíaca

El ultrasonido no mide directamente la función cardíaca, para lo cual son más precisos los métodos invasivos, pero, mediante ecuaciones matemáticas basadas en las medidas o geometría de las estructuras y cavidades del corazón, más el volumen o peso del paciente (o animal en cuestión) y constantes fisiológicas como la frecuencia cardíaca, es posible tener una aproximación que es de mucha utilidad para fines clínicos (Gross, 2009). A este respecto se han estandarizado valores de referencia para cada caso por múltiples investigadores (Boon, 2010; de Madron et al., 2016).

2.5.6.1 Función sistólica

Se han propuesto distintos índices para evaluar la función sistólica, los más utilizados se determinan a través de mediciones realizadas principalmente en los modos M y Doppler espectral, aunque hay algunos obtenidos en modo B. (de Madron et al., 2016).

Ventrículo Izquierdo

Fracción de acortamiento

Este índice es el más usado y fácil de medir (de Madron et al., 2016), nos indica el porcentaje en que el ventrículo disminuye su diámetro entre diástole y sístole, o sea que tanto se “acorta”, y aunque no es una medida la contractibilidad

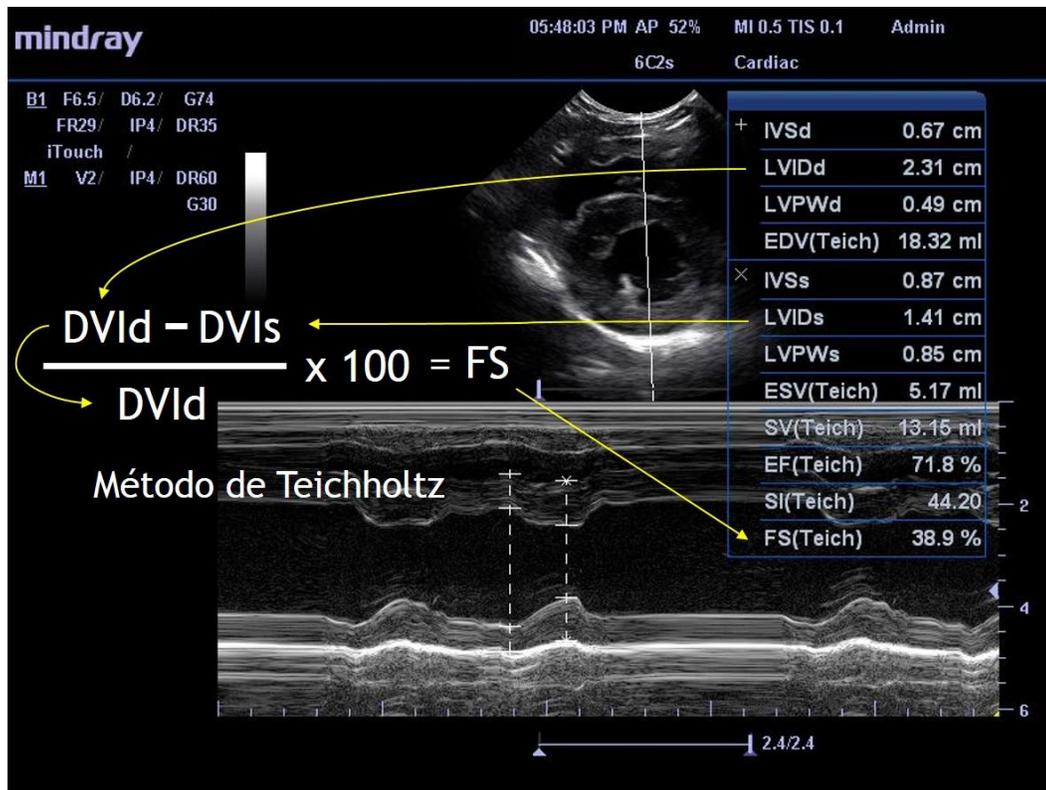


Figura 3. Cálculo de la fracción de acortamiento (FS) mediante el método de Teichholtz

en sí, permite conocer el cambio de tamaño siempre que exista una contracción simétrica (Ferraris, 2007); dado que en el ventrículo la disposición de las fibras es radial y longitudinal y este mide principalmente la contractibilidad radial (de Madron et al., 2016). Su valor se ve afectado por la precarga, la poscarga y la contractibilidad de forma conjunta y por separado. Una contractibilidad o precarga reducidas disminuyen su valor y un incremento en la poscarga lo aumenta y viceversa (Ferraris, 2007; Fuentes, 2008).

Se calcula en Modo M (Figura 3), midiendo el diámetro interno del ventrículo entre las superficies internas del septo y la pared libre, al final de la diástole (DVI) y en la sístole (DVS) (Fuentes, 2008; Boon, 2010). Se realiza desde la ventana paraesternal derecha en eje corto a nivel de los músculos papilares o en eje largo al mismo nivel. Para calcularla se usa la siguiente fórmula (Ferraris, 2007; Fuentes, 2008; Boon, 2010; Boon, 2016; de Madron et al., 2016):

$$FS (\%) = \frac{DVId - DVIs}{DVId} \times 100$$

Los valores normales reconocidos en perros van de 33 a 46 % (Boon, 2016).

Fracción de eyección

Este índice se calcula a partir de los volúmenes ventriculares al final de la sístole y diástole, por lo cual estos deben ser estimados.

La primera forma de calcularlos se fundamenta en un método geométrico (de Madron et al., 2016), que consiste en pasar a volumen (3D) las mediciones bidimensionales tomadas en modo M para el índice anterior (fracción de acortamiento), mediante la ecuación de Teichholz (Ferraris, 2007), la cual se basa en la siguiente fórmula:

$$V = D^3 \times 7 (2.4 + D)$$

Donde el volumen (V) está dado por dos componentes, el diámetro (D^3) y la forma geométrica ($7 [2.4 + D]$); que ajustado a la especie canina quedaría como sigue para cada volumen:

$$\text{Volumen diastólico} = LVd^3 \times 7 / \left[2.4 + 3.7 \times \frac{LVd}{0.795 \times W^{\frac{1}{3}}} \right]$$

$$\text{Volumen sistólico} = LVs^3 \times 7 / \left[2.4 + 5.9 \times \frac{LVs}{0.795 \times W^{\frac{1}{3}}} \right]$$

Donde W es igual al peso del animal (de Madron et al., 2016).

Otras formas para calcular los volúmenes son los métodos planimétricos, los cuales no requieren de una aproximación geométrica como el anterior. En éstos, el volumen ventricular se obtiene en modo B, ventanas paraesternal derecha o apical izquierda, en vistas de 2 o 4 cámaras. En los tres métodos existentes se traza con una línea el contorno del endocardio del ventrículo tanto en sístole como en diástole para delimitar su área interna.

El método de Simpson divide esta área con múltiples líneas que forman discos o rebanadas del mismo grosor, de la suma de cuyos volúmenes se obtiene el volumen ventricular total.

Los dos métodos restantes son conocidos como de longitud-área y difieren entre sí en la fórmula para calcular el volumen; además de delimitar el área ventricular, ambos trazan su longitud dibujando una línea desde la punta del ápex hasta la mitad del anillo atrio-ventricular. Las fórmulas de cálculo de volumen de ambos métodos de longitud-área se presentan a continuación:

$$V = 0.85 A^2/L$$

$$V = \frac{5}{6} A \times L$$

Donde V es el volumen, A el área interna y L el largo ventricular (de Madron et al., 2016).

Ya conociendo los volúmenes diastólicos y sistólicos, la fracción de eyección se obtiene de manera similar a la de acortamiento sustituyendo diámetros por volúmenes quedando de la siguiente forma (Ferraris, 2007; Fuentes, 2008):

$$EF (\%) = \frac{Vol VId - Vol VIs}{Vol VId} \times 100$$

Como su nombre lo indica, la fracción de eyección equivaldría a la proporción de volumen sanguíneo eyectado en un ciclo por el ventrículo izquierdo. En general permite una comprensión más precisa del desempeño sistólico que la fracción de acortamiento, pero se ve afectada por los mismos factores hemodinámicos (pre, poscarga y frecuencia cardiaca). Se sabe que valores debajo de 40% son indicativos de disfunción sistólica (de Madron et al., 2016) con valores normales máximos de 65% (Fuentes, 2008).

También se tiene conocimiento de que su precisión depende del método usado para calcular los volúmenes. La principal limitante del cálculo de este índice en base al método de Teichholz es el riesgo de elevar al cubo los errores de

medición (Ferraris, 2007), por lo que tiende a sobreestimar su valor si se compara con los métodos de Simpson y los de longitud-área (de Madron et al., 2016).

Aurícula izquierda

La función sistólica del atrio izquierdo puede ser evaluada a través de su fracción de acortamiento. Al igual que la del ventrículo se miden en modo M su diámetro en sístole y diástole, luego se aplica la misma fórmula.

La medición se realiza en ventana paraesternal derecha, eje corto a nivel de la válvula aórtica (Fuentes, 2008).

2.5.6.2 Función diastólica

En cardiología clínica, una de las funciones más difíciles de evaluar es la diastólica, por lo que la ultrasonografía, particularmente con el Doppler, permite realizar la tarea de forma no invasiva (Ferraris, 2007).

En la diástole interactúan distintos factores como el grosor de las paredes, la distensibilidad o compliancia ventricular, la relajación activa del miocardio, el pericardio, la presión intratorácica, la geometría ventricular, la dimensión de las válvulas, frecuencia cardíaca, edad, función sistólica, entre otras (Ferraris, 2007; de Madron et al., 2016).

El método más común de evaluarla es mediante el flujo transmitral a través de la determinación de la proporción E/A (Ferraris, 2007; Fuentes, 2008; Boon, 2010; de Madron et al., 2016).

Flujo transmitral

El flujo laminar transmitral consta de dos ondas de ingreso hacia el ventrículo, por tanto, positivas y denominadas como E la primera y A la segunda (Figura 4). La E corresponde a la velocidad máxima del flujo de llenado rápido ventricular y está dada por su diástole, la cual aumenta el gradiente de presión dentro del ventrículo permitiendo la apertura de la válvula y el paso de sangre a la cavidad. Luego el flujo se desacelera y la válvula se cierra hasta el momento de la sístole atrial, tiempo en el que la válvula se abre de nuevo permitiendo el paso del flujo nuevamente hacia

el ventrículo, que alcanza su velocidad máxima en el punto A, el cual se desacelera cerrando al final nuevamente la válvula mitral y dando paso al período de relajación isovolumétrica que termina con un nuevo ciclo.

Se mide con Doppler de pulso, en ventana apical izquierda vista de 4 o 5 cámaras, colocando la guía de muestras en la punta de la válvula mitral (Boon, 2010; Gallay-Lepoutre et al., 2016).

En condiciones normales la relación E/A es mayor a 0.92 y menor a 2.72 (Chetboul et al., 2005). Existen tres patrones anormales que indican disfunción diastólica, los cuales son progresivos entre sí en las cardiopatías. Estos están asociados a la disfunción sistólica e incluso pueden precederla (de Madron et al., 2016).

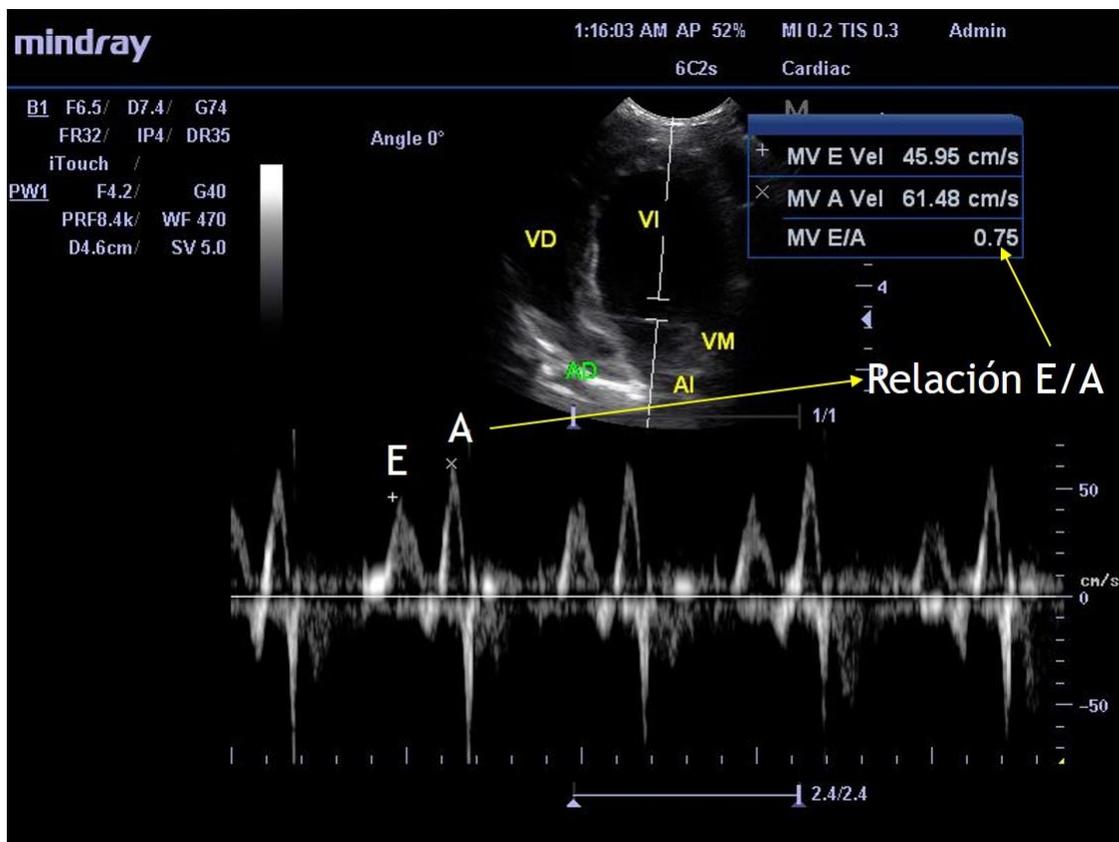


Figura 4. Imagen ecocardiográfica en ventana apical izquierda, vista de cuatro cámaras, modo B. Registro del flujo transmitral con Doppler pulsado para la determinación de la función diastólica del ventrículo izquierdo. El patrón de flujo es de relajación retardada

Patrón de relajación retardada

En esta fase el pico E es menor al A (Figura 4), por lo que su proporción es menor a 0.92. Al ser la primera etapa, indica una disfunción leve (Ferraris, 2007).

Aquí el tiempo de relajación durante la diástole aumenta debido a anomalías en la recaptura de calcio por el retículo sarcoplásmico, lo que provoca tensión miocárdica por lo que el llenado ventricular se da en la diástole tardía con ayuda al final por la sístole atrial. El tiempo de relajación isovolumétrica también se incrementa (de Madron et al., 2016).

Patrón pseudo normal

Se trata de la segunda etapa de disfunción diastólica. Hay una aparente normalización del relleno ventricular diastólico temprano y del tiempo de relajación isovolumétrico, que resulta del aumento de presión atrial. La compliancia también se altera provocando incremento de la presión ventricular, reducción del gradiente atrio-ventricular y relleno diastólico final reducido. Como resultado la onda E aumenta su velocidad por la presión atrial incrementada y la A disminuye por la reducción del compliance y a que la presión al final de la diástole ventricular aumenta (de Madron et al., 2016).

En este momento la relación E/A se encuentra en valores normales, pero las velocidades de ambas son reducidas (Fuentes, 2008).

Patrón restrictivo

Este patrón sugiere una disfunción diastólica ventricular grave. En este punto las propiedades elásticas del ventrículo se encuentran afectadas por la fibrosis intersticial y la presión de llenado ventricular. Ahora el llenado en la fase de relajación se da por incremento de la presión de llenado y el relleno atrial disminuye como resultado de la pérdida de elasticidad del ventrículo izquierdo y de inotropismo atrial, que a su vez provoca disminución del gradiente atrio-ventricular diastólico final. (de Madron et al., 2016).

Gráficamente se aprecia un pico E muy rápido o elevado y el A corto o reducido, por lo que la proporción E/A se encuentra por encima de los valores de referencia (Fuentes, 2008).

2.6 La ecocardiografía en la investigación de la Tripanosomiasis Americana

En humanos existen estudios de caracterización de las alteraciones ecocardiográficas en pacientes con enfermedad de Chagas (Cuadro 1), en los que de manera general se ha encontrado que las funciones diastólica y sistólica, y el movimiento de la pared libre y el septo se reducen. Se ha descrito movimiento segmentado parcial del septo y pared ventricular izquierda, y disfunción sistólica generalizada en hamsters (*Mesocricetus auratus*) y movimiento septal asincrónico en monos Rhesus (*Macaca mulatta*) (Cuadro 1) infectados experimentalmente.

Durante la fase terminal de la etapa crónica de la enfermedad, tanto en el humano como en el perro, el cambio reportado con más frecuencia por diversos autores en la cardiomiopatía dilatada (Camacho y De Oliveira, 2007; Graiff, 2010; Rassi Jr. et al., 2010; Weese et al., 2011; Taylor et al., 2016), para lo cual, el ultrasonido es la herramienta diagnóstica de elección para identificarlo (Chetboul, 2016).

En perros también se reportan otros cambios ecocardiográficos en individuos infectados con *T. cruzi*. Un estudio en 14 perros Beagle inoculados con aislados de *T. cruzi* procedentes de zarigüeyas (6 animales), armadillos (2 casos) y perros (6 pacientes), monitoreados desde su inoculación hasta 459 días post-infección; encontró deterioro de las fracciones de acortamiento y eyección (usando la ecuación de Teichholz en modo M), adelgazamiento e hipocinesis de la pared libre ventricular izquierda (en modo M y B respectivamente) e incremento de la tasa de engrosamiento septo:pared ventricular izquierda en sístole (modo M) (Barr et al., 1992).

En un análisis retrospectivo de 11 casos con infección natural en etapa crónica sintomática entre 1987 y 1996, analizaron los ecocardiogramas realizados

a 8 de esos perros, cuatro de los cuales presentaban agrandamiento de atrio y ventrículo derechos (50% cada uno), en tres había regurgitación en válvula tricúspide (37.5%), tres más presentaron disminución de la fracción de acortamiento e índice de volumen sistólico final (37.5%) y únicamente en dos casos fue posible

Cuadro 1. Estudios sobre caracterización de alteraciones ecocardiográficas en individuos infectados con *T. cruzi*

Autor	Especie	Parámetro	Indicador/modo	Hallazgos
(Chandra et al., 2002)	Ratones	a) Función sistólica b) Estructuras ventrículo izquierdo c) Tamaño VD	a) FA b) SIV, DVI, PVI en modo M c) Grado de dilatación en modo B	a) Función sistólica reducida b) DVI aumentado, SIV y PVI adelgazados c) Dilatación VD
(Yacoub et al., 2003)	Humanos	a) Función miocárdica b) Grosor del septo y pared c) Índice grosor de pared libre/cavidad ventricular	a) Índice de desempeño miocárdico b) SIV, PVI en modo M c) SIV/DIV en modo M	a) Índice elevado en positivos asintomáticos b) Grosor reducido c) Bajo índice
(Carvalho et al., 2003)	Monos rhesus	a) Movimiento pared y septo b) Función sistólica	a) PVI y SIV en modo M y modo B b) FE	a) Movimiento septal asincrónico b) Disminución de FE solo en un caso
(García-Álvarez et al., 2010)	Humanos	a) Función diastólica b) Función sistólica	a) Doppler pulsado índice E/A b) FE	a) Velocidad de anillo mitral reducida y tiempo de desaceleración aumentado
(Ramirez et al., 2010)	Humanos	a) Movimiento de paredes b) Función ventricular global	a) y b) No menciona la metodología	a) Movimiento de paredes anormal b) Función disminuida
(Valerio et al., 2011)	Humanos	a) Función de la pared del VI b) Vascularización ventricular c) Función sistólica d) Función valvular	Modo B y Doppler	a) Disfunción de la pared del VI b) Escasos aneurismas c) Escasa FE disminuida d) Escasa regurgitación mitral
(de Oliveira et al., 2016)	Hamsters	a) Función sistólica b) Movimiento sistólico segmentado de la pared ventricular izquierda	a) FS b) Modelo de 13 segmentos en ejes corto y largo en modo B	a) Disfunción generalizada b) Movimiento segmentado parcial

VD= Ventrículo derecho, VI= ventrículo izquierdo, FS= Fracción de acortamiento, EF= Fracción de eyección, SIV= Septo inter ventricular, DVI= Diámetro ventrículo izquierdo, PVI= Pared ventrículo izquierdo

observar dilatación ventricular izquierda, regurgitación mitral o efusión pericárdica (25% en cada caso). El autor no menciona en su metodología el modo en que fueron obtenidas sus mediciones (modos B, M o Doppler) (Meurs et al., 1998).

En un estudio más reciente, se realizaron ecocardiogramas Doppler y en modo M a 7 perras que habían sido infectadas experimentalmente con cepa colombiana ocho años antes. En 6 de ellas (85.71%) se encontró el índice E/A invertido (patrón de relajación retardada o disfunción leve) e hipomotilidad del septo interventricular; en este trabajo no se reportó cardiomegalia (Pascon et al., 2010).

La mayoría de estos estudios se han hecho en animales infectados experimentalmente y sólo uno con infección natural. Por otra parte, el tamaño de muestra ha sido reducido, por lo que no se puede determinar que tales cambios ecocardiográficos caracterizan a los perros con infección por *T. cruzi*.

3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Existen alteraciones características en los indicadores ecocardiográficos de la anatomía, función sistólica y diastólica del ventrículo izquierdo de perros cardiopatas con infección natural por *T. cruzi*.

OBJETIVO GENERAL

Caracterizar las alteraciones ecocardiográficas de perros cardiopatas con infección natural por *T. cruzi*.

Objetivos específicos:

- Obtener valores de los indicadores ecocardiográficos de la estructura anatómica (diámetro, grosor de septo y pared libre, en sístole y diástole), función sistólica (fracción de acortamiento) y diastólica (índice E/A) del ventrículo izquierdo de perros con infección natural por *T. cruzi*.
- Clasificar y agrupar a los perros con infección natural por *T. cruzi* de acuerdo a la severidad de los cambios en los indicadores obtenidos.

- Determinar la frecuencia de las alteraciones en los indicadores ecocardiográficos de estructura, función sistólica y patrones de flujo transmitral de los perros con infección natural por *T. cruzi*.
- Comparar los indicadores de estructura y función del ventrículo izquierdo entre los grupos formados de acuerdo a la severidad de los cambios.
- Determinar la asociación entre patrones de flujo y la severidad de los cambios por la infección por *T. cruzi*.
- Identificar los valores característicos de los indicadores ecocardiográficos de la estructura anatómica, función sistólica y diastólica de perros con infección natural por *T. cruzi*.

4. REFERENCIAS

- Alcantara, C. L., Vidal, J.C, de Souza, W. y Cunha-e-Silva, N. L. 2014. The three-dimensional structure of the cytostome-cytopharynx complex of *Trypanosoma cruzi* epimastigotes. *Journal of Cell Science* 127(10):2227-2237. (Article) doi: 10.1242/jcs.135491.
- Barr, S. C., Holmes, R. A. y Klei, T. R.. 1992. Electrocardiographic and echocardiographic features of trypanosomiasis in dogs inoculated with North American *Trypanosoma cruzi* isolates. *American Journal of Veterinary Research* 53(4):521-527.
- Boon, J. A. 2010. *Veterinary echocardiography*. Second ed. Iowa State University Press, Ames, IA.
- Boon, J. A. 2016. *Two-Dimensional and M-Mode Echocardiography for the Small Animal Practitioner*. Second edition ed. Wiley-Blackwell, United States.
- Bowman, D. D. 2008. *Georgis' parasitology for veterinarians*. 9a. ed ed. Elsevier, United States.
- Camacho, A. A., y De Oliveira, R. 2007. Cardiopatía chagásica en caninos. In: Belerenian, G., Mucha, C. J., Camacho, A. A. y Manubens-Grau, J. (eds). *Afecciones Cardiovasculares en Pequeños Animales*. Inter-Médica, Buenos Aires. p. 289 - 295.
- Campos, C. F., Cangussú, S. D., Duz, A. L. C., Cartelle, C. T., Noviello, M. D. L., Veloso, V. M., Bahia, M. T., Almeida-Leite, C. M. y Arantes, R. M. E. 2016. Enteric Neuronal Damage, Intramuscular Denervation and Smooth Muscle Phenotype Changes as Mechanisms of Chagasic Megacolon: Evidence from a Long-Term Murine Model of *Trypanosoma cruzi* Infection. *Public Library of Science* 11(4):1-18. (Article) doi: 10.1371/journal.pone.0153038.
- Carvalho, C. M. E., Andrade, M. C. R., Xavier, S. S., Mangia, R. H. R., Britto, C. C., Jansen, A. M., Fernandes, O., Lannes-Vieira, J. y Bonecini-Almeida, M. D. 2003. Chronic Chagas' disease in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*):

- Evaluation of parasitemia, serology, electrocardiography, echocardiography, and radiology. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 68(6):683-691.
- Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea. 2018. Realiza el examen para la detección de la enfermedad de Chagas. <http://www.gob.mx/cnts/acciones-y-programas/realiza-el-examen-para-la-deteccion-de-la-enfermedad-de-chagas>. (Accesado 20 mayo 2018).
- Chetboul, V. 2016. Dilated Cardiomyopathy and Other Cardiomyopathies in Dogs, In: de Madron, E., Chetboul, V. y Bussadori, C (eds). *Clinical Echocardiography of the Dog and Cat*. Elsevier Health Sciences, St. Louis Missouri. p. 181-205.
- Chetboul, V., Sampedrano, C. C., Concordet, D., Tissier, R., Lamour, T., Ginesta, J., Gouni, V., Nicolle, A. P., Pouchelon, J. L. y Lefebvre, H. P. 2005. Use of quantitative two-dimensional color tissue Doppler imaging for assessment of left ventricular radial and longitudinal myocardial velocities in dogs. *American Journal of Veterinary Research* 66(6):953-961. doi: 10.2460/ajvr.2005.66.953.
- Cornell, C. C., Kittleson, M. D., Della Torre, P., Häggström, J., Lombard, C. W., Pedersen, H. D., Vollmar, A. y Wey, A. 2004. Allometric Scaling of M-Mode Cardiac Measurements in Normal Adult Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 18(3):311-321. doi: 10.1111/j.1939-1676.2004.tb02551.x.
- Cunha-Neto, E., Teixeira, P. C., Nogueira, L. G. y Kalil, J.. 2011. Autoimmunity. In: Weiss, L. M. y Tanowitz, H. B. (eds). *Advances in Parasitology* No. 76. Elsevier Academic Press Inc, San Diego. p. 129-152.
- da Fonseca-Fernandes, A., Rodrigues-Menezes Pimenta, C. L., Fernandes-Vidal, I., Capriogli-Oliveira, G., Sartori, R. S., Barros-Araújo, R., Almeida-Melo, M., Langoni, H. y Santos-Azevedo, S. 2016. Risk factors associated with seropositivity for *Leishmania spp.* and *Trypanosoma cruzi* in dogs in the state of Paraíba, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 25(1):90-98. doi: 10.1590/S1984-29612016010.
- Deane, M. P., Lenzi, H. L. y Jansen, A. 1984. *Trypanosoma cruzi*: vertebrate and invertebrate cycles in the same mammal host, the opossum *Didelphis marsupialis*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 79(4):513-515.
- de Madron, E., Chetboul, V. y Bussadori, C. 2016. *Clinical Echocardiography of the Dog and Cat*. Elsevier Health Sciences, St. Louis Missouri.
- de Oliveira, L. F. L., Romano, M. M. D., de Carvalho, E. E. V., Cabeza, J. M., Salgado, H. C., Fazan, R, Costa, R. S., da Silva, J. S., Higuchi, M. D., Maciel, B. C., Cunha-Neto, E., Marin-Neto, J. A. y Simoes, M. V. 2016. Histopathological Correlates of Global and Segmental Left Ventricular Systolic Dysfunction in Experimental Chronic Chagas Cardiomyopathy. *Journal of the American Heart Association* 5(1):11. (Article) doi: 10.1161/jaha.115.002786.
- Espinoza, B., Rico, T., Sosa, S., Oaxaca, E., Vizcaino-Castillo, A., Caballero, M. L. y Martinez, I.. 2010. Mexican *Trypanosoma cruzi* *T. cruzi* I Strains with Different Degrees of Virulence Induce Diverse Humoral and Cellular Immune Responses in a Murine Experimental Infection Model. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*:10. (Article) doi: 10.1155/2010/890672.

- Ferraris, S. R. 2007. Ecocardiografía. In: Belerenian, G., Mucha, C. J., Camacho, A. A. y Manubens-Grau, J. (eds). Afecciones Cardiovasculares en Pequeños Animales. Inter-Médica, Buenos Aires.p. 129 - 177.
- Fuentes, V. L. 2008. Echocardiography and Doppler ultrasound. In: Smith, F. W. K., Tilley, L. P., Oyama, M. A. y Sleeper, M. M. (eds). Manual of canine and feline cardiology. Elsevier Health Sciences, St. Louis, Missouri. p. 77 - 92.
- Gallay-Lepoutre, J., Bélanger, M. C. y Nadeau, M. E. 2016. Prospective evaluation of Doppler echocardiography, tissue Doppler imaging and biomarkers measurement for the detection of doxorubicin-induced cardiotoxicity in dogs: A pilot study. *Research in Veterinary Science* 105:153-159. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rvsc.2016.02.001>.
- García-Álvarez, A., Sitges, M., Pinazo, M. J., Regueiro-Cueva, A, Posada, .E., Poyatos, S., Ortiz-Pérez, J. T., Heras, M., Azqueta, M., Gascón, J. y Sanz, G. 2010. Chagas Cardiomyopathy: The Potential of Diastolic Dysfunction and Brain Natriuretic Peptide in the Early Identification of Cardiac Damage. *Public Library of Science Neglected Tropical Diseases* 4(9):8. (Article) doi: 10.1371/journal.pntd.0000826.
- Garzoni, L. R., Adesse, D., Soares, M. J., Rossi, M. I. D., Borojevic, R. y de Meirelles, M. D. L. 2008. Fibrosis and hypertrophy induced by *Trypanosoma cruzi* in a three-dimensional cardiomyocyte-culture system. *Journal of Infectious Diseases* 197(6):906-915. (Article; Proceedings Paper) doi: 10.1086/528373.
- Girard-Dias, W., Alcantara, C. L., Cunha-e-Silva, N., de Souza, W. y Miranda, K. 2012. On the ultrastructural organization of *Trypanosoma cruzi* using cryopreparation methods and electron tomography. *Histochemistry and Cell Biology* 138(6):821-831. (Article) doi: 10.1007/s00418-012-1002-8.
- Graiff, D. S. 2010. Relación entre perros seropositivos a *Trypanosoma cruzi* y alteraciones electrocardiográficas compatibles con miocardiopatía chagásica canina en la localidad de La Para (Córdoba-Argentina). Tesis, Maestría en Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral, Argentina.
- Gross, D. R. 2009. Animal models in cardiovascular research. Third ed. Springer, New York.
- Guedes, P. M. M., Veloso, V. M., Caliari, M. V., Carneiro, C. M., Souza, S. M., de Lana, M., Chiari, E., Bahia, M. T. y Galvao, L. M. C. 2007. *Trypanosoma cruzi* high infectivity in vitro is related to cardiac lesions during long-term infection in Beagledogs. *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz* 102(2):141-147.
- Guhl, F. 2016. Epidemiología molecular de *Trypanosoma cruzi*. *Revista Española de Salud Pública*:1-8.
- Herrera, L. 2010. Una revisión sobre reservorios de *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* (Chagas, 1909), agente etiológico de la Enfermedad de Chagas. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental* 50(1):3-15.
- Herrera-Aguilar, M., Be-Barragan, L. A., Ramirez-Sierra, M. J., Tripet, F., Dorn, P. y Dumonteil, E. 2009. Identification of a large hybrid zone between sympatric sibling species of *Triatoma dimidiata* in the Yucatan peninsula,

- Mexico and its epidemiological importance. *Infection Genetics and Evolution* 9(6):1345-1351. (Article) doi: 10.1016/j.meegid.2009.09.009.
- Herrera L. y Urdaneta-Morales, S. 2000. Avances en la caracterización de biotopos de *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* aislado de urbanizaciones y parques recreacionales del valle de Caracas (Venezuela). *Acta Biológica Venezuelica* 20: 45-51.
- Higuera, S. L., Guhl, F. y Ramirez, J. D. 2013. Identification of *Trypanosoma cruzi* Discrete Typing Units (DTUs) through the implementation of a High-Resolution Melting (HRM) genotyping assay. *Parasites & Vectors* 6:112. (Report).
- Jansen, A. M., Leon, L., Machado, G. M., da Silva, M. H., Souza-Leão, S. M. y Deane, M. P. 1991. *Trypanosoma cruzi* in the opossum *Didelphis marsupialis*: parasitological and serological follow-up of the acute infection. *Experimental Parasitology* 73(3):249-259.
- Jiménez-Coello, M., Acosta-Viana, K. Y., Guzmán-Marín, E., Bárcenas-Irabién, A. y Ortega-Pacheco, A., 2015. American trypanosomiasis and associated risk factors in owned dogs from the major city of Yucatan, Mexico. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases* 21:37. doi: 10.1186/s40409-015-0039-2.
- Jiménez-Coello, M., Acosta-Viana, K. Y., Guzman-Marin, E., Gomez-Rios, A. y Ortega-Pacheco, A. 2012. Epidemiological Survey of *Trypanosoma cruzi* Infection in Domestic Owned Cats from the Tropical Southeast of Mexico. *Zoonoses and Public Health* 59:102-109. doi: 10.1111/j.1863-2378.2012.01463.x.
- Jiménez-Coello, M., Guzmán-Marín, E., Ortega-Pacheco, A. y Acosta-Viana, K. Y. 2010a. Serological Survey of American Trypanosomiasis in Dogs and Their Owners From an Urban Area of Mérida Yucatán, México. *Transboundary and Emerging Diseases* 57(1-2):33-36. doi: 10.1111/j.1865-1682.2010.01130.x.
- Jiménez-Coello, M., Ortega-Pacheco, A., Guzman-Marin, E., Guiris-Andrade, D. M., Martinez-Figueroa, L. y Acosta-Viana, K. Y. 2010b. Stray Dogs as Reservoirs of the Zoonotic Agents *Leptospira interrogans*, *Trypanosoma cruzi*, and *Aspergillus spp.* in an Urban Area of Chiapas in Southern Mexico. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 10(2):135-141. doi: 10.1089/vbz.2008.0170.
- Jiménez-Coello, M., Poot-Cob, M., Ortega-Pacheco, A., Guzman-Marin, E., Ramos-Ligonio, A., Sauri-Arceo, C. H. y Acosta-Viana, K. Y., 2008. American Trypanosomiasis in Dogs from an Urban and Rural Area of Yucatan, Mexico. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 8(6):755-761.
- Kirchhoff, L. V. 2011. Epidemiology of American Trypanosomiasis (Chagas Disease). In Weiss, : L. M., Tanowitz, H. B. y Kirchhoff, L. V. (eds). *Advances in Parasitology* No. 75. Elsevier Academic Press Inc, San Diego. p. 1-18.
- Licón-Trillo, A., Balsimelli-De La Peña, K., Acosta-Legarda, M., Leal-Berumen, I., Noguera-Torres, B. y Martínez-Ibarra, J. A. 2010. Infección natural por *Trypanosoma cruzi* en triatominos del Centro y Norte de México. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental* 50(2):311-314.

- Martínez-Ibarra, J. A., Noguera-Torres, B., Salazar-Schettino, P. M., Cabrera-Bravo, M., Vences-Blanco, M. O. Rocha-Chávez, y G. 2016. Transmission Capacity of *Trypanosoma cruzi* (Trypanosomatida: Trypanosomatidae) by Three Subspecies of *Meccus phyllosomus* (Heteroptera: Reduviidae) and Their Hybrids. *Journal of Medical Entomology* 53(4):928-934. (Article) doi: 10.1093/jme/tjw041.
- Matta-Guedes, P. M., Veloso, V. M., Patriarca-Mineo, T. W., Santiago-Silva, J., Crepalde, G., Santana-Caldas, I., Lima-Nascimento, L. N., Lana, M., Chiari, E., da Cunha Galvão, L. M. y Bahia, M. T. 2016. Hematological alterations during experimental canine infection by *Trypanosoma cruzi*. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 21(2):151-156.
- Meurs, K. M., Anthony, M. A., Slater, M. y Miller, M. W., 1998. Chronic *Trypanosoma cruzi* infection in dogs: 11 cases (1987-1996). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 213(4):497.
- Miles, M. A., Llewellyn, M. S., Lewis, M. D., Yeo, M., Baleela, R., Fitzpatrick, S., Gaunt, M. W. y Mauricio, I L., 2009. The molecular epidemiology and phylogeography of *Trypanosoma cruzi* and parallel research on *Leishmania*: looking back and to the future. *Parasitology* 136(12):1509-1528. doi: 10.1017/S0031182009990977.
- Naiff, R., Naiff, M., Barrett, T. y Arias, J. 1987. *Trypanosoma cruzi* nas glândulas anais de *Didelphis marsupialis*: primeiro registro de infecções naturais. In: X Congresso da Sociedade Brasileira de Parasitologia, Salvador, BA, abstract.
- Nouvellet, P., Ramirez-Sierra, M. J., Dumonteil, E. y Gourbiere, S. 2011. Effects of genetic factors and infection status on wing morphology of *Triatoma dimidiata* species complex in the Yucatan peninsula, Mexico. *Infection Genetics and Evolution* 11(6):1243-1249. (Article) doi: 10.1016/j.meegid.2011.04.008.
- Nyland, T. G., y Mattoon, J. S. 2002. *Small animal diagnostic ultrasound*. Elsevier Health Sciences. San Diego.
- OMS. 2016. OMS | La enfermedad de Chagas (Tripanosomiasis Americana). <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/es/>. (Accessed 15 november 2016).
- OPS y OMS. 2018. OPS OMS / Enfermedad de Chagas. https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_topics&view=article&id=10&Itemid=40743. (Accessed 20 jun 2018).
- Paláu, M. T. 2016. Relación hospedero-parásito *Trypanosoma cruzi*. *Revista MVZ Córdoba* 5(1):33-37.
- Pascon, J. P. D., Neto, G. B. P., Sousa, M. G., Paulino, D. y Camacho, A. A., 2010. Clinical characterization of chronic chagasic cardiomyopathy in dogs. *Pesquisa Veterinaria Brasileira* 30(2):115-120 (Article) doi: 10.1590/s0100-736x2010000200003.
- Quijano-Hernández, I. A., Castro-Barcena, A., Aparicio-Burgos, E., Barbosa-Mireles, M. A., Cruz-Chan, J. V., Vázquez-Chagoyán, J. C., Bolio-González, M. E. y Dumonteil, E. 2012. Evaluation of clinical and immunopathological features of different infective doses of *Trypanosoma cruzi* in dogs during the

- acute phase. *The Scientific World Journal* 2012:635169-635166. doi: 10.1100/2012/635169.
- Quiroz-Romero, H. 1990. *Parasitología*. p 854. Limusa, México.
- Ramsey, J. M., Peterson, A. T., Carmona-Castro, O., Moo-Llanes, D. A., Nakazawa, Y., Butrick, M., Tun-Ku, E., de la Cruz-Félix, K. y Ibarra-Cerdeña, C. N. 2015. Atlas of Mexican Triatominae (Reduviidae: Hemiptera) and vector transmission of Chagas disease. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 110(3):339-352. doi: 10.1590/0074-02760140404.
- Ramírez, J. D., Guhl, F., Rendón, L. M., Rosas, F., Marín-Neto, J. A. y Morillo, C. A. 2010. Chagas Cardiomyopathy Manifestations and *Trypanosoma cruzi* Genotypes Circulating in Chronic Chagasic Patients. *Public Library of Science Neglected Tropical Diseases* 4(11):9. (Article) doi: 10.1371/journal.pntd.0000899.
- Rassi, A. y de Rezende, J. M. 2012. American trypanosomiasis (Chagas disease). *Infectious Disease Clinics* 26(2):275-291.
- Rassi Jr., A., Rassi, A. y Marin-Neto, J. A., 2010. Chagas disease. *The Lancet* 375(9723):1388-1402.
- Rodrigues-Coura, J. 2015. The main sceneries of Chagas disease transmission. The vectors, blood and oral transmissions - A comprehensive review. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 110(3):277-282. doi: 10.1590/0074-0276140362.
- Romero-López, J. A., y Martínez-Maya, J. J. 2010. Historia natural de la enfermedad. In: Jaramillo-Arango, C. J. y Martínez-Maya, J. J. (eds). *Epidemiología Veterinaria. Manual Monderno*, México, D. F. p. 19 - 31.
- Ruiz-Piña, H. A. y Cruz-Reyes, A. 2002. The opossum *Didelphis virginiana* as a synanthropic reservoir of *Trypanosoma cruzi* in Dzidzilche, Yucatan, Mexico. *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz* 97(5):613-620. (Article).
- Salazar Schettino, P. M., Rojas Wastavino, G. E., Cabrera Bravo, M., Bucio Torres, M. I., Martínez Ibarra, J. A., Monroy Escobar, M. C., Rodas Retana, A., Guevara Gómez, Y., Vences Blanco, M. O. y Ruiz Hernández, A. L. 2010. Revisión de 13 especies de la familia Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) vectores de la enfermedad de Chagas, en México. *Journal of the Selva Andina Research Society* 1(1):57-81.
- Salvador, F., Sánchez-Montalvá, A., Valerio, L., Serre, N., Roure, S., Treviño, B., Pou, D., Sulleiro, E., Bocanegra, C. y Molina, I. 2015. Immunosuppression and Chagas disease; experience from a non-endemic country. *Clinical Microbiology and Infection* 21(9):854-860. doi: 10.1016/j.cmi.2015.05.033.
- Secretaría de Salud. 2018a. Boletín Epidemiológico Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica Sistema Único de Información. <http://www.gob.mx/salud/documentos/boletinepidemiologico-sistema-nacional-de-vigilancia-epidemiologica-sistema-unico-de-informacion-141143>. (Accessed 20 june 2016).
- Secretaría de Salud. 2018b. Datos abiertos. Defunciones. <https://datos.gob.mx/busca/dataset/defunciones>. (Accessed 22 june 2018).
- Secretaría de Salud. 2014a. Manual de Diagnóstico y Tratamiento de la Enfermedad de Chagas.

- <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/39222/ManualEnfermedadChagas2014.compressed.pdf> (Accessed 2 february 2017).
- Secretaría de Salud. 2014b. Programa de acción específico. Prevención y control de la Enfermedad de Chagas.
http://www.cenaprece.salud.gob.mx/descargas/pdf/PAE_PreencionControlEnfermedadChagas2013_2018.pdf (Accessed 2 february 2017).
- Secretaría de Salud. 2015a. Guía metodológica de estudios entomológicos para triatominos.
<http://www.cenaprece.salud.gob.mx/programas/interior/vectores/descargas/pdf/GuiaEntomologiaChagas.pdf>. (Accessed 30 january 2017).
- Secretaría de Salud, D. G. d. E. 2016. Manual de procedimientos estandarizados para la vigilancia epidemiológica de la enfermedades transmitidas por vectores.
http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/doctos/infoepid/vig_epid_manuales/32_2016_Manual_ETV.pdf (Accessed 30 january 2017).
- Secretaría de Salud, E. U. M. 2015b. NOM-032-SSA2-2014.
http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5389045&fecha=16/04/2015 (Accessed 31 january 2017).
- Servicios de Salud de Yucatán, G. d. E. d. Y. 2014. Síntesis Informativa.
<http://salud.yucatan.gob.mx/wp-content/uploads/2014/03/LUNES-17-DE-MARZO-DEL-2014.pdf> (Accessed 30 january 2017).
- Snowden, K. F. y Budke, C. M. 2013. Dogs and Protozoan Zoonosis. In: Macpherson, : C. N. L., Meslin, F. X. y Wandeler, A. I. (eds). Dogs, Zoonoses and Public Health. CABI, United Kingdom.
- Taylor, M. A., Coop, R. L. y Wall, R. L., 2016. Veterinary Parasitology. Wiley Blackwell, New Delhi.
- Tidholm, A., Bodegård-Westling, A., Höglund, K., Häggström, J. y Ljungvall, I. 2017. Real-Time 3-Dimensional Echocardiographic Assessment of Effective Regurgitant Orifice Area in Dogs With Myxomatous Mitral Valve Disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 31(2):303-310.
- Valente-da Silva, S. A., Valente-da Costa, V. y Fraiha Neto, H. 1999. Considerations on the epidemiology and transmission of Chagas disease in the Brazilian Amazon. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 94:395-398.
- Valerio, L., Roure, S., Sabria, M., Balanzo, X., Valles, X. y Seres, L. 2011. Clinical, electrocardiographic and echocardiographic abnormalities in Latin American migrants with newly diagnosed Chagas disease 2005-2009, Barcelona, Spain. *Eurosurveillance* 16(38):5-10. (Article).
- Vezzosi, T., Mannucci, T., Pistoressi, A., Toma, F., Tognetti, R., Zini, E., Domenech, O., Auriemma, E. y Citi, S. 2017. Assessment of Lung Ultrasound B-Lines in Dogs with Different Stages of Chronic Valvular Heart Disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 31(3):700-704.
- Vitt, J. P., Saunders, A. B., O'Brien, M. T., Mansell, J., Ajithdoss, D. K. y Hamer, S. A., 2016. Diagnostic Features of Acute Chagas Myocarditis with Sudden Death in a Family of Boxer Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 30(4):1210-1215. (Article) doi: 10.1111/jvim.13967.

- Weese, J. S., Peregrine, A. S. Anderson, M. E. C. y Fulford, M. B., 2011. Parasitic Diseases. In: S Weese, J. S. y Fulford, M. B. (eds). Companion Animal Zoonoses. Iowa State University Press, Ames, Iowa. p. 3-107.
- Wheeler, R. J., Gull, K. y Gluenz, E. 2012. Detailed interrogation of trypanosome cell biology via differential organelle staining and automated image analysis. *BioMed Central Biology* 10:17. (Article) doi: 10.1186/1741-7007-10-1.
- Yacoub, S., Birks, E. J., Slavik, Z. y Henein, M. 2003. Early detection of myocardial dysfunction in Chagas disease using novel echocardiographic indices. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 97(5):528-534. (Article) doi: 10.1016/s0035-9203(03)80016-0.
- Zingales, B., Andrade, S., Briones, M., Campbell, D., Chiari, E., Fernandes, O., Guhl, F., Lages-Silva, E., Macedo, A., Machado, C., Miles, M., Romanha, A., Sturm, N, Tibayrenc, M. y Schijman, A. 2009. A new consensus for *Trypanosoma cruzi* intraspecific nomenclature: second revision meeting recommends TcI to TcVI. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 104(7):1051-1054. doi: 10.1590/S0074-02762009000700021.
- Zingales, B., Miles, M. A., Campbell, D. A., Tibayrenc, M., Macedo, A. M., Teixeira, M. M. G., Schijman, A. G., Llewellyn, M. S., Lages-Silva, E., Machado, C. R. et al., 2012. The revised *Trypanosoma cruzi* subspecific nomenclature: Rationale, epidemiological relevance and research applications. *Infection, Genetics and Evolution* 12(2):240-253. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meegid.2011.12.009>.

III. ARTÍCULO ELABORADO PARA LA PUBLICACIÓN DE ACUERDO AL FORMATO DEFINIDO POR LA REVISTA THE VETERINARY JOURNAL

Artículo original

Caracterización de alteraciones ecocardiográficas en perros cardiópatas positivos a *Trypanosoma cruzi*

E. E. Avalos-Borges^a, C. M. Acevedo-Arcique^b, J. C. Segura-Correa^a, M. Jiménez-Coello^c,
A. Ortega-Pacheco^{a*}.

^a Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Yucatán. Km 15.5 Carretera Mérida-X'matkuil, Apdo. Postal 4-116 Itzimmá, CP 97100, Mérida, Yucatán. Tel. (999) 9 42-32-00 ext. 32. Fax: 942-32-05.

^b Hospital Veterinario para Perros y Gatos. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma de Yucatán. Calle 18 No. 271, San José Vergel, C.P.97173 Mérida, Yucatán. Tel (999)1661158.

^c Centro de Investigaciones Regionales “Dr Hideyo Noguchi”, Universidad Autónoma de Yucatán.

* Corresponding autor. Tel. (999) 9 42-32-00 ext. 32. Fax: 942-32-05.
E-mail adress: opacheco@uady.mx (A. Ortega-Pacheco).

Abstract

American Trypanosomiasis or Chagas Disease is a zoonotic and vector-borne disease produced by the flagellated protozoan *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*). The objective of this study was to characterize the echocardiographic alterations of *T. cruzi* naturally-infected heart-disease dogs. A cross-sectional study was conducted in 130 owned dogs positive to *T. cruzi*. Indicators of structure, systolic and diastolic function of left ventricle were measured and flow patterns evaluated with echocardiography. Animals were grouped according to the presence or absence of dilated cardiomyopathy (DCM). The alterations frequency in the indicators was determined and compared between groups, and the association among flow patterns and the severity of the disease was analyzed. The 95% prediction intervals of all the indicators were calculated. In the group without DCM there was an increase in inter ventricular septum in systole (IVSs) and decrease in left ventricular diameter in diastole (LVDd), left ventricular diameter in systole (LVDs) and fraction of shortening (FS). In dogs with DCM, dilatation of LVDd and LVDs, increase in IVSs and FS decreased was found. There were significant differences ($p < 0.05$) in inter ventricular septum in diastole (IVSd), LVDd, left ventricular wall in diastole (LVWd) and LVDs. The flow patterns present were delayed relaxation, normal and pseudo normal, and there was no association with the severity of the damage due to the disease. The range of values that characterize the echocardiographic indicators of structure and function of the left ventricle in *T. cruzi* naturally-infected heart-diseased dogs was determined.

Keywords: ecocardiographyc alterations; left ventricle; dog; *Trypanosoma cruzi*; flow patterns.

Introducción

La Tripanosomiasis Americana o mal de Chagas es una enfermedad infecciosa producida por un protozooario flagelado y transmitida por vectores del género *Triatominae* (Quiroz-Romero, 1990). Se distribuye en gran parte del continente americano e infecta a varias especies de mamíferos silvestres, domésticos y al humano (Kirchhoff, 2011). En Yucatán, la enfermedad se ha detectado en perros en zonas rurales y urbanas (Jiménez-Coello *et al.*, 2008). Para Mérida, se ha reportado una prevalencia en caninos de 12.2 % (Jiménez-Coello *et al.*, 2015).

El agente causal de la Tripanosomiasis Americana es el protozooario flagelado *T. cruzi*, (Taylor *et al.*, 2016). Cuando *T. cruzi* infecta al perro puede formar quistes (amastigotes) en los tejidos retículo-endotelial, músculos cardíaco y estriado y en las células de la neuroglia del sistema nervioso central. Durante la fase crónica sintomática de la enfermedad se presenta cardiomiopatía dilatada (CMD), arritmias ventriculares, endocarditis, endocardiosis valvular e insuficiencia cardíaca congestiva (de Lana *et al.*, 1992).

En humanos se han realizado numerosos estudios para caracterizar las alteraciones ecocardiográficas en pacientes con Enfermedad de Chagas (Yacoub *et al.*, 2003; García-Álvarez *et al.*, 2010; Ramírez *et al.*, 2010; Valerio *et al.*, 2011), al igual que en diversos modelos animales (Carvalho *et al.*, 2003; de Oliveira *et al.*, 2016). En los caninos se han reportado algunos cambios ecocardiográficos en pacientes infectados con *T. cruzi* (Barr *et al.*, 1992; Meurs *et al.*, 1998; Pascon *et al.*, 2010), pero se han realizado con tamaños de muestra tan reducidos, que tales anomalías no se pueden generalizar a toda la población. El objetivo de este trabajo fue caracterizar las alteraciones ecocardiográficas en perros cardiopatas con infección natural por *T. cruzi*.

Materiales y métodos

Área de estudio

El estudio se realizó con pacientes del Hospital Veterinario para Perros y Gatos de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Yucatán, ubicado en Mérida, Yucatán, México (19°30'' y 21°35'' N; 87°30'' y 90°24'' O). El clima

de la zona es tropical sub-húmedo, con una estación lluviosa bien definida que va de los meses de mayo-junio a octubre-noviembre (Sedesol, 2007).

Selección de animales

Se realizó un estudio transversal donde se eligieron por conveniencia 130 perros con dueño, ambos sexos, mayores de dos años, de diferentes tallas, pesos y razas. Todos los animales eran cardiopatas, no tratados, positivos cuando menos a una prueba diagnóstica para la detección de *T. cruzi*, ya fuese serológica (ELISA confirmado con Western blot) y/o molecular (PCR) (Anexo 1). A todos los animales se les realizó una evaluación ecocardiográfica una sola vez.

Se consideraron cardiopatas a aquellos perros que cumplieran con al menos dos de los siguientes criterios: alteraciones compatibles con cardiopatía en la anamnesis, examen físico (Gompf, 2016) y en alguna prueba de gabinete como el estudio radiográfico¹ (Poteet, 2016), electrocardiograma (que no fueran imputables a desequilibrios electrolíticos) (Tilley y Burtnick, 2009) o en la determinación de la presión arterial² (Kittleson and Kienle, 1998).

Toma de muestras

De cada individuo se obtuvieron dos muestras de sangre vía vena cefálica o yugular. Una muestra de sangre completa se colectó en tubos PAX-gene (BD-QIAGEN®) para preservar el ADN hasta su purificación. Una segunda muestra sin anticoagulante se colocó en tubos estériles (BD Vacutainer®) y se centrifugó a 400 rpm por 15 min para obtener el suero. El ADN fue extraído de las muestras de sangre completa de acuerdo a Jiménez-Coello *et al.* (2008). Subsecuentemente se siguió el protocolo del kit comercial DNeasy Blood and

¹ Ver: Valoraciones radiográficas del tamaño cardíaco y de la aurícula izquierda: mediciones clásicas y últimas novedades:

http://www.ecgveterinaria.com/pdf/Valoraciones_RXS_tama%C3%B1o_cardiaco_%20y_auricula_izquierda_mediciones_clasicas_y_ultimas_novedades.pdf (Accessed 10 march 2017).

² Ver: Hipertensión e hipotensión arterial: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n070707/070725.pdf> (Accessed 15 march 2017)

Tissue (QIAGEN®). Tanto el ADN purificado como el suero fueron almacenados a -75 °C hasta su análisis.

Análisis serológico y molecular

El diagnóstico serológico de la Tripanosomiasis Americana se realizó por la detección de inmunoglobulinas (IgG) anti *T. cruzi* con un kit comercial de ELISA (Chagatest ELISA recombinant v.3.0, Wiener, Argentina) y fue confirmado con Western blot, según lo descrito por Jiménez-Coello et al.(2015).

Para detectar la presencia de ADN de *T. cruzi* en sangre se realizó el ensayo de PCR conforme al método usado por Jiménez-Coello et al.(2008), empleando también los primers TC1 y TC2. Como controles positivos se usó ADN obtenido de epimastigotes de cultivos axénicos y ADN genómico purificado de sangre completa de ratones infectados con *T. cruzi* cepa Y. Como control negativo se empleó ADN genómico heterólogo de *Salvia hispánica*.

Evaluación ecocardiográfica de la estructura y función cardíaca

La preparación, posicionamiento y escaneo de los perros se realizó de acuerdo a la técnica convencional (Boon, 2010; Boon, 2016; de Madron, 2016c). Se empleó un equipo de ultrasonido de tiempo real Mindray M7 (Mindray Electronics®, Shenzhen, China) con transductor cardíaco sectorial de 2 a 4 MHz.

Para visualizar el ventrículo izquierdo se empleó la ventana paraesternal derecha en eje corto, el transductor se colocó a nivel de los músculos papilares con la marca del transductor orientada hacia el codo derecho. En modo M se realizaron las siguientes medidas en sístole y en diástole: el grosor del septo interventricular, de la pared libre y el diámetro del ventrículo izquierdo. (Boon, 2010; Boon, 2016; de Madron, 2016c). Para comparar estos parámetros entre individuos de talla, peso y raza distintos, las medidas de las estructuras se normalizaron de acuerdo a la fórmula de escala alométrica para medidas cardíacas en modo M de perros adultos (Cornell et al., 2004). Usando el método de Teichholtz se calculó la fracción de acortamiento (FA) para valorar la función sistólica.

La medición de la función diastólica se realizó empleando la ventana apical izquierda, con la marca de referencia orientada hacia la columna vertebral. En vista de 4 cámaras se registró el flujo transmitral con Doppler de pulso, colocando el volumen de muestra en la punta de la válvula mitral (Gallay-Lepoutre et al., 2016). Se marcaron los picos de las ondas E y A, se realizó el cálculo del índice E/A y se identificaron los patrones de flujo presentes (normal, de relajación retardada, pseudo normal y restrictivo) (Ferraris, 2007; Fuentes, 2008; de Madron, 2016a).

Análisis estadístico

La distribución normal de las variables de interés se confirmó mediante la prueba de Shapiro-Wilk. Los animales se agruparon de acuerdo a la severidad de los cambios en los indicadores obtenidos, lo que se estableció de conforme a los criterios ultrasonográficos propuestos por la Sociedad Europea de Cardiología Veterinaria (criterios mayores: Dilatación del ventrículo izquierdo en diástole o sístole, esfericidad ventricular, adelgazamiento del septo y disminución de la FA; criterios menores: Aumento del espacio entre el punto E y el septo o EPSS, valores incongruentes de la FA y dilatación atrial izquierda o bilateral) (Chetboul, 2016). Se determinó la frecuencia de las alteraciones de cada indicador de estructura y función cardíaca, y se compararon entre los grupos mediante análisis de varianza, el cual se corrió con el procedimiento GLM (PROC GLM) del software SAS, para comparación de medias en un experimento desbalanceado (SAS Inst. Inc., 1993; Segura-Correa y Herrera-Camacho, 2016).

También se analizó con χ^2 la asociación entre los patrones de flujo transmitral y los grupos y se establecieron los valores característicos de todas las variables estudiadas con un intervalo de predicción de 95%, agrupándolos por 2.5, 5, 25, 50, 75, 90 y 97.5 percentiles (Gonçalves et al., 2002; Cornell, et al., 2004). Todos los análisis estadísticos se corrieron con el software SAS (SAS v9.3; SAS Inst. Inc., Cary, NC).

Resultados

El cambio más notorio y severo en el conjunto de indicadores de estructura anatómica del ventrículo izquierdo fue la CMD. El grupo A fue conformado por los perros que la presentaron y constó de 15 individuos, mientras que los 115 animales sin CMD formaron el grupo el B. En la figura 5 se observa una imagen de la evaluación cardiaca de un paciente positivo a *T. cruzi* con CMD, donde se aprecia dilatación del ventrículo izquierdo (esfericidad ventricular) con adelgazamiento del septo y su arqueamiento hacia el ventrículo derecho. Es notorio un mayor diámetro del atrio derecho respecto al izquierdo.

Las alteraciones encontradas en ambos grupos se presentan en el Cuadro 2. En el A sobresale que 100% de los animales presentan aumento del diámetro del ventrículo izquierdo en diástole (DVI_d) y 46.67% tienen alterada la FA (13.33% aumentada y 33.34% disminuida). En el grupo B las alteraciones más frecuentes fueron incremento del septo inter

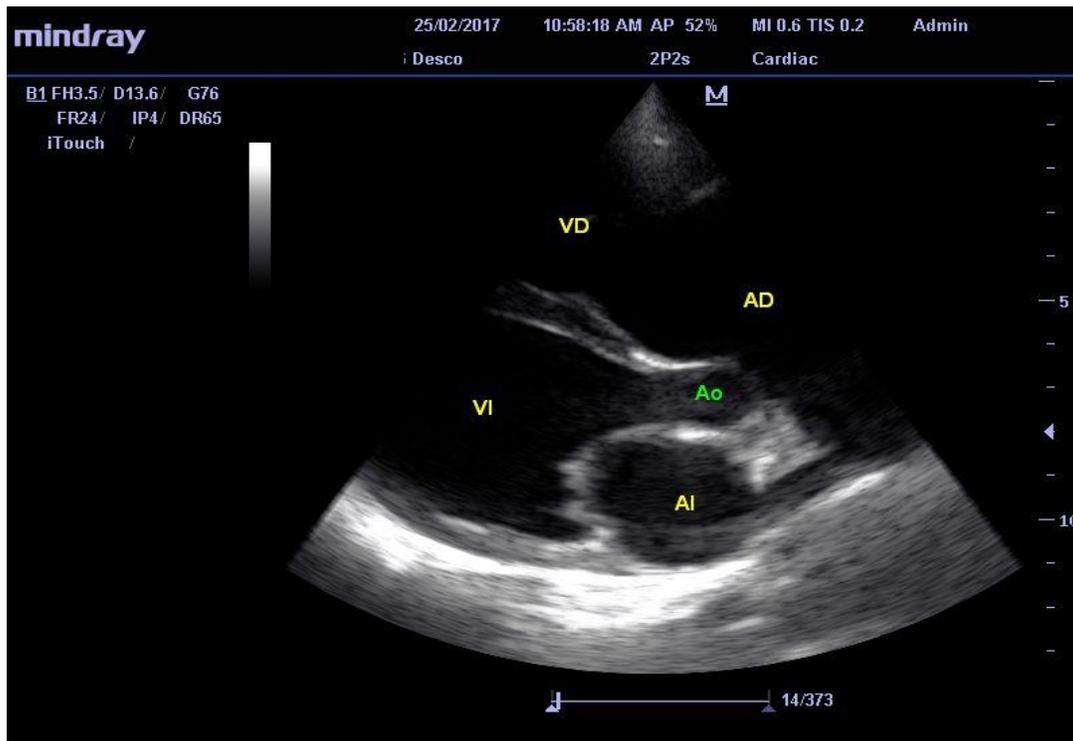


Figura 5. Imagen ecocardiográfica en ventana paraesternal derecha, eje largo, vista de cinco cámaras en modo B del corazón de un paciente con cardiopatía dilatada positivo a *T. cruzi*. Se aprecia arqueamiento del septo hacia el ventrículo derecho (VD) y dilatación de atrio (AI) y ventrículo izquierdo (VI). El atrio derecho (AD) también se observa dilatado y de mayor tamaño que el izquierdo. Ao= Arteria aorta.

ventricular en sístole (SIVs) (20%) y disminución del DVI_d (33.91%), del diámetro del ventrículo izquierdo en sístole (DVI_s) (35.65%) y la FA (25.22%).

El análisis de varianza mostró que los grupos presentan diferencias significativas ($p < 0.05$) en 4 de 8 variables de respuesta, estos son septo inter ventricular en diástole (SIV_d), DVI_d, pared del ventrículo izquierdo en diástole (PVI_d) y DVI_s (Cuadro 3). No se encontraron diferencias en ninguna medida de función cardíaca.

En el Cuadro 3 también podemos observar que las medias de todos los indicadores se encuentran dentro del rango de normalidad según los valores de referencia, a excepción del DVI_d del grupo A.

Cuadro 2. Frecuencia de alteraciones en indicadores ultrasonográficos (modo M) en la estructura y función sistólica del ventrículo izquierdo en perros cardiopatas positivos a *T. cruzi*

		Alteraciones					
		Incremento		Disminución		Sin cambios	
		n	%	n	%	n	%
A (N=15)	SIV _d	0	0.00	1	6.67	14	93.33
	DVI _d	15	100.00	0	0.00	0	0.00
	PVI _d	0	0.00	2	13.33	13	86.67
	SIV _s	4	26.67	2	13.33	9	60.00
	DVI _s	4	26.67	0	0.00	11	73.33
	PVIS	2	13.33	2	13.33	11	73.33
	FA	2	13.33	5	33.34	8	53.33
B (N=115)	SIV _d	10	8.70	1	0.87	104	90.43
	DVI _d	0	0.00	39	33.91	76	66.09
	PVI _d	13	11.30	2	1.74	100	86.96
	SIV _s	23	20.00	3	2.61	89	77.39
	DVI _s	1	0.87	41	35.65	73	63.48
	PVIS	9	7.83	4	3.48	102	88.70
	FA	19	16.52	29	25.22	67	58.26

A= Positivos con CMD, B=Positivos sin CMD. SIV= septo inter ventricular, DVI= diámetro ventrículo izquierdo, PIV= pared ventrículo izquierdo, d= diástole, s= sístole. FA= Fracción de acortamiento.

Al comparar las imágenes de los grupos (Figura 6), algunas diferencias son notorias a simple vista. El grupo B (Figura 6B) presenta en promedio mayor grosor de paredes y del septo, con menor diámetro del espacio ventricular (Cuadro 3); mientras que el grupo A fue muy heterogéneo con individuos con CMD incipiente y avanzada (Figura 6C y 6D) y con los mayores valores de DIV (Cuadro 3).

En cuanto a los patrones de flujo, en el 20% de los perros del grupo A se detectó patrón pseudo normal (Figura 7D), mientras que flujos normales y de relajación retardada se observaron cada uno en 40% de animales. En el grupo B se encontró 38.26% de patrones de relajación retardada (Figura 7B), 53.91% tuvo un patrón normal (Figura 7C), 6.96% registró el pseudo normal y 0.87% el restrictivo.

La prueba de Chi² dio como resultado una probabilidad de asociación entre tipo de flujos y grupo de 0.3477.

Los valores característicos para las variables de estructura y función cardíaca, global y por grupo, con intervalo de predicción de 95%, se muestran en el cuadro 4. Las cifras entre los percentiles 2.5 y 97.5 conforman el rango de valores esperados para cada indicador ecocardiográfico.

Cuadro 3. Análisis de varianza de indicadores ultrasonográficos de las estructuras, función sistólica en modo M y función diastólica con Doppler pulsado del ventrículo izquierdo en perros cardiopatas positivos a *T. cruzi*

Variables	GRUPO		
	A (n=15) $\mu \pm e. e.$	B (n=115) $\mu \pm e. e.$	Referencia ^{1, 2, 3}
SIVd	0.4240 ^a ± 0.0216	0.4903^b ± 0.0078	0.29 - 0.59 ¹
DVIId	2.0473^a ± 0.0618	1.3814 ^b ± 0.0223	1.27 - 1.85 ¹
PVIId	0.3987 ^a ± 0.0256	0.4882^b ± 0.0092	0.29 - 0.60 ¹
SIVs	0.6473 ^a ± 0.0379	0.6968 ^a ± 0.0137	0.43 - 0.79 ¹
DIVs	1.2127^a ± 0.0513	0.7829 ^b ± 0.0185	0.71 - 1.26 ¹
PVIs	0.6813 ^a ± 0.0334	0.7163 ^a ± 0.0121	0.48 - 0.87 ¹
FA	37.67 ^a ± 2.7263	40.41 ^a ± 0.9846	33 - 46% ²
E/A	1.4020 ^a ± 0.1177	1.4049 ^a ± 0.0433	0.92 - 2.72 ³

A= Positivos con cardiomiopatía dilatada (CMD), B=Positivos sin CMD. SIV= septo inter ventricular, DVI= diámetro ventrículo izquierdo, PIV= pared ventrículo izquierdo, d= diástole, s= sístole. FA= Fracción de acortamiento, E/A= índice E/A. Columnas con literales distintas son estadísticamente diferentes (p < 0.05) 1. Cornell, et al. (2004), 2. Boon (2016), 3. Chetboul et al. (2005)

Discusión

El grupo más numeroso en este estudio (115 casos) fue el que no tiene CMD (grupo B), lo que es consistente con la tendencia reportada por otros autores (Meurs et al., 1998; Pascon et al., 2010). Este fenómeno no significa que la CMD sea poco frecuente en perros infectados con *T. cruzi*, sino que al ser una característica terminal de la enfermedad (Graiff, 2010; Rassi Jr. et al., 2010; Weese et al., 2011; Pereira-Nunes et al., 2013; Taylor et al., 2016), más bien sugiere que la mayoría de los animales no la han presentado y tal vez muchos mueran antes de hacerlo debido a las arritmias, bloqueos, endocarditis, endocardiosis

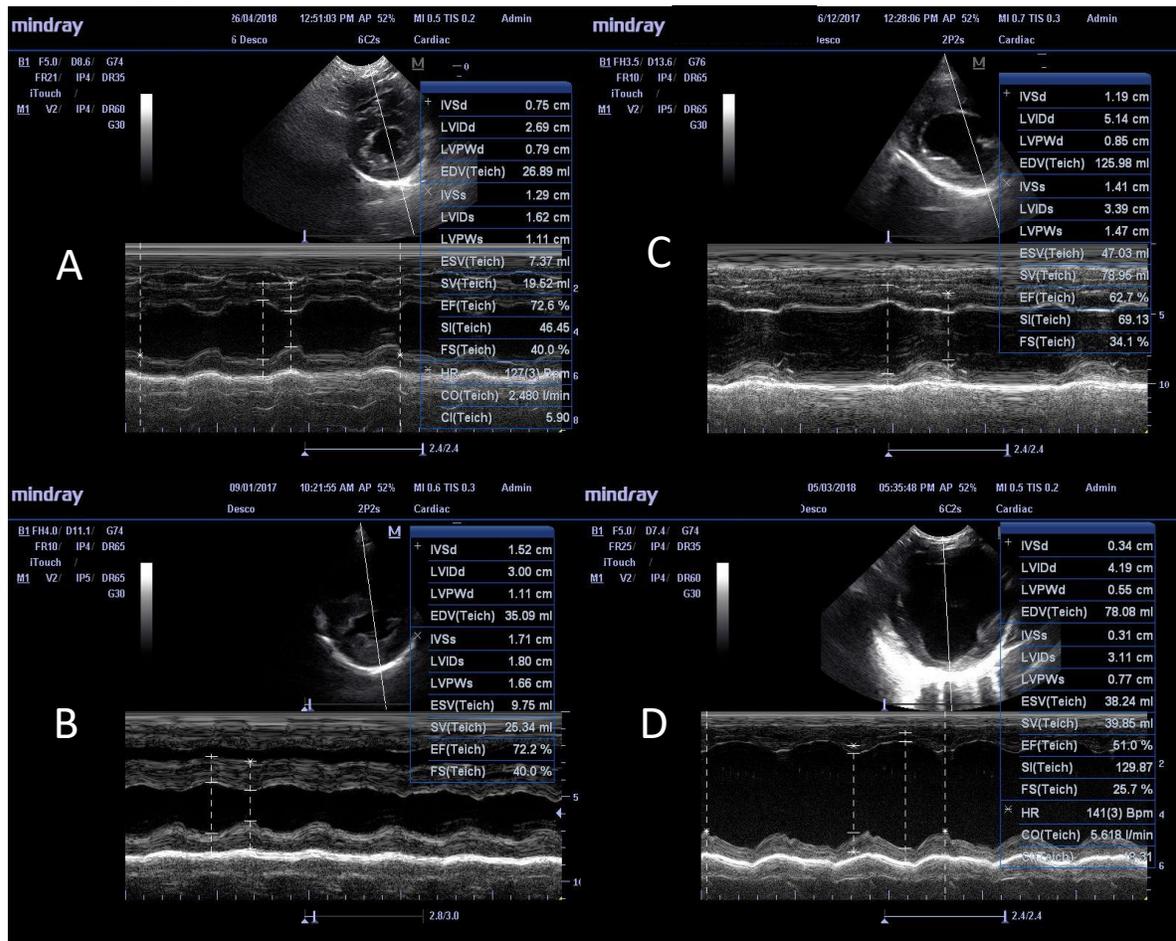


Figura 6. Imágenes ecocardiográficas comparativas en ventana paraesternal derecha, eje corto, a nivel de músculos papilares en modo M de las estructuras del ventrículo izquierdo y valores de Teichholz de perros cardiopatas positivos a *T. cruzi*. A. Paciente sano y negativo a *T. cruzi*, B. paciente positivo sin cardiomiopatía dilatada (CMD), C. paciente positivo con CMD incipiente, D. Paciente positivo con CMD avanzada. IVS= Septo intraventricular, LVID = Diámetro del ventrículo Izquierdo, LVPW= Pared libre del ventrículo izquierdo, d = diástole, s= sístole, FS= Fracción de acortamiento, EDV= Volumen diastólico final, ESV= Volumen sistólico final, SV= Volumen eyectado, EF= Fracción de eyección, SI=Índice de eyección, CO= Gasto cardíaco, CI= Índice cardíaco, HR= Frecuencia cardíaca.

valvular, insuficiencia cardíaca congestiva y demás condiciones que pueden manifestarse antes de desarrollarla (Graiff, 2010; Pereira-Nunes et al., 2013). En este estudio también se encontró que tres perros con CMD resultaron negativos a las pruebas serológicas (Cuadro 5 en anexo 1), lo que indica que la infección por *T. cruzi* fue posterior a que desarrollaran la CMD.

Cuadro 4. Intervalos de predicción de 95% para indicadores ultrasonográficos de las estructuras, función sistólica en modo M* y función diastólica con Doppler pulsado del ventrículo izquierdo en perros cardiopatas positivos a *T. cruzi*

GRUPO	Indicador	Percentil	Percentil	Percentil	Percentil	Percentil	Percentil	Percentil
		2.5	5	25	50	75	95	97.5
A (n=15)	SIVd ^a	0.27	0.27	0.36	0.44	0.49	0.55	0.55
	DVIId ^a	1.86	1.86	1.93	2.03	2.17	2.33	2.33
	PVIId ^a	0.23	0.23	0.33	0.38	0.46	0.59	0.59
	SIVs ^a	0.32	0.32	0.57	0.66	0.80	0.88	0.88
	DVIIs ^a	0.97	0.97	1.05	1.22	1.28	1.58	1.58
	PVIIs ^a	0.34	0.34	0.57	0.65	0.83	1.03	1.03
	FA ^a	15	15	30	38	45	53	53
	E/A ^a	0.38	0.38	1.04	1.40	1.61	2.46	2.46
B (n=115)	SIVd ^b	0.31	0.34	0.45	0.49	0.54	0.64	0.67
	DVIId ^b	0.90	0.93	1.19	1.40	1.58	1.79	1.81
	PVIId ^b	0.30	0.32	0.42	0.49	0.55	0.68	0.70
	SIVs ^a	0.43	0.47	0.62	0.68	0.76	0.94	0.99
	DVIIs ^b	0.37	0.43	0.63	0.78	0.93	1.11	1.17
	PVIIs ^a	0.42	0.51	0.64	0.72	0.80	0.91	0.95
	FA ^a	13	23	35	40	46	56	63
	E/A ^a	0.84	1.02	1.21	1.36	1.53	2.09	2.60
Global (n=130)	SIVd	0.30	0.31	0.45	0.48	0.53	0.61	0.67
	DVIId	0.90	0.94	1.21	1.43	1.66	2.05	2.17
	PVIId	0.28	0.32	0.41	0.48	0.55	0.64	0.70
	SIVs	0.42	0.45	0.61	0.68	0.76	0.92	0.98
	DVIIs	0.41	0.49	0.65	0.82	0.99	1.23	1.31
	PVIIs	0.42	0.51	0.63	0.72	0.80	0.91	0.95
	FA	15	23	35	40	46	56	60
	E/A	0.84	0.95	1.21	1.36	1.55	2.09	2.46

A= Positivos con CMD, B=Positivos sin CMD. SIV= septo inter ventricular, DVI= diámetro ventrículo izquierdo, PIV= pared ventrículo izquierdo, d= diástole, s= sístole. FA= Fracción de acortamiento, E/A= índice E/A

*valores normalizados de acuerdo al método de Cornell, et al. (2004).

Columnas con literales distintas son estadísticamente diferentes (p < 0.05)

La dilatación ventricular es la característica principal de la CMD (Chetboul, 2016) y muchos textos la refieren como una de las alteraciones más conocidas de la Tripanosomiasis Americana en perros y humanos (Camacho y De Oliveira, 2007; Guedes et al., 2009; Rassi Jr. et al., 2010; Weese et al., 2011; Pereira-Nunes et al., 2013; Taylor et al., 2016). El DIVd y el DVIs presentan diferencia significativa ($p < 0.05$) entre grupos. Esta diferencia se debe a que el DVId rebasa el valor máximo del rango de referencia (Cornell et al., 2004) en todos los perros del grupo A (Cuadros 2 y 4), pero en ninguno del B; contrariamente, el DVIs se encuentra reducido en poco menos de la mitad de los animales del grupo B y en ninguno del A (Cuadro 2). El comportamiento del grupo B es similar al reportado por Vitt et al. (2016).

En la CMD además de dilatación ventricular, existe adelgazamiento de la PVI y/o SIV (Chetboul, 2016). Estos dos indicadores registraron la media más baja en el grupo A (Cuadro 3) y fueron significativamente diferentes al B ($p < 0.05$) durante la diástole. El adelgazamiento de la pared en el grupo A en ambos momentos del ciclo cardíaco es consistente a lo reportado en otros estudios (Barr et al., 1992). No hubo diferencia estadísticamente significativa entre grupos en SIVs y pared del ventrículo izquierdo en sístole (PVIIs), probablemente debido a que el estrés aumenta la frecuencia cardíaca y respiratoria, lo que puede alterar la medición de las estructuras (Boon, 2010); también aumenta la contractibilidad del miocardio (Sisson, 2010) lo que incrementa de forma transitoria su grosor, particularmente el del SIVs.

Barr et al. (1992) también encontraron engrosamiento septal, lo que se observa en este estudio durante la sístole en un moderado porcentaje de individuos en ambos grupos (Cuadro 2), quienes rebasan el valor máximo de referencia de grosor septal (Cornell et al., 2004).

En el grupo B el SIVd y la PVIId resultaron significativamente más gruesos ($p < 0.05$), y el DVIs fue estadísticamente menor ($p < 0.05$) respecto al grupo A. Lo anterior sugiere una tendencia hacia la disminución del diámetro ventricular, ya que la reducción del DVIs fue la alteración más frecuente en el grupo B (Cuadro 2). Dicha condición ha sido reportada en algunos pacientes en etapa aguda (Vitt et al., 2016), pero no en la fase crónica (Barr et al., 1992; Meurs et al., 1998; Pascon et al., 2010). Este hallazgo no indica que los perros del grupo B están en la fase aguda, puesto que la gran mayoría (92 de 115) resultaron positivos

a serología (Cuadro 5, anexo 1), además la media de los tres indicadores está dentro del rango de referencia (Cornell et al., 2004). Tal alteración posiblemente se deba a la fibrosis provocada por la pérdida de células miocárdicas y su reemplazo por fibras de colágeno en la fase crónica (Guedes et al., 2007; Garzoni et al., 2008; Cunha-Neto et al., 2011), antes de que con el tiempo se desarrolle la CMD debido a los mecanismos cardiovasculares compensatorios (Camacho y De Oliveira, 2007). También es posible que exista diferencia en la cepa o DTU de *T. cruzi* respecto a los estudios anteriores (Barr et al., 1992; Meurs et al., 1998; Pascon et al., 2010), pues el DTU (TcI) que circula en la zona de estudio es cardiotrópico y altamente patogénico (Miles et al., 2009; Espinoza et al., 2010).

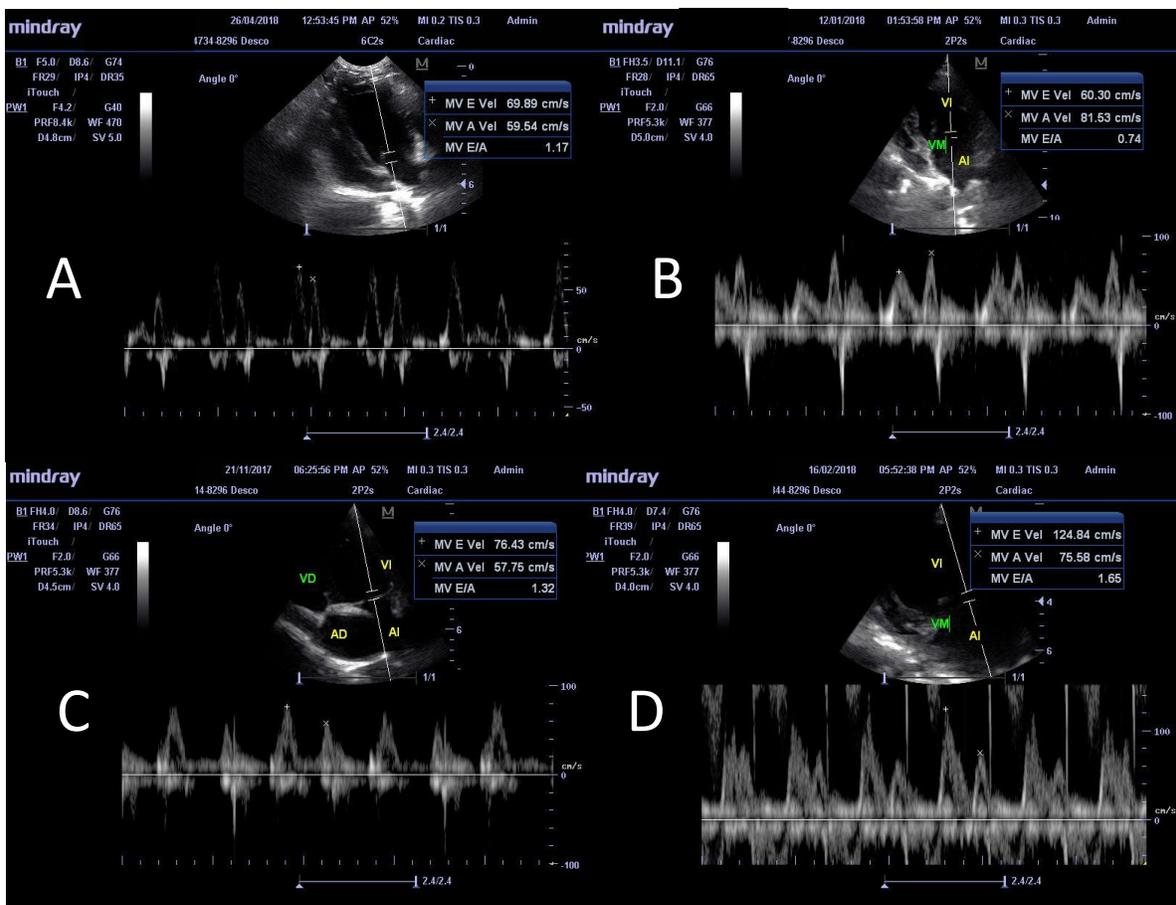


Figura 7. Imagen ecocardiográfica en ventana apical izquierda, vista de cuatro cámaras en modo B de imagen ecocardiográfica con Doppler pulsado del flujo transmitral y cálculo de índice E/A en perros cardiopatas positivos a *T. cruzi*. A. Patrón normal en paciente sano y negativo a *T. cruzi*, B. Patrón de relajación retardada en perro positivo sin cardiomiopatía dilatada (CMD), C. Patrón normal en paciente positivo sin CMD, D. Flujo de patrón pseudo normal en paciente positivo con CMD. AI= atrio izquierdo, VI= ventrículo izquierdo, AD=atrio derecho, VD= ventrículo derecho, VM=válvula mitral. MV E vel= velocidad del pico E, MV A vel= velocidad del pico A, MV E/A= índice E/A

Como en otros estudios (Barr et al., 1992; Meurs et al., 1998), se encontró disfunción sistólica (FA disminuida) en los animales de ambos grupos, y aunque las proporciones fueron diferentes (Cuadro 2), no hubo diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre ellos (Cuadro 3); posiblemente porque en la mayoría de los pacientes la contractibilidad del miocardio es todavía normal, o por efecto del ya mencionado estrés de los perros, que aumenta de la frecuencia cardíaca y el diámetro ventricular (de Madron, 2016b).

La media de la función diastólica (índice E/A) se halló dentro de los rangos de referencia (Chetboul et al., 2005) en ambos grupos. Los patrones de flujo no se encontraron asociados a la Tripanosomiasis Americana o a la severidad de ésta (con o sin CMD) debido a que en ambos grupos hay un número similar de casos con patrón de relajación retardada y a que, aunque con proporciones diferentes, los dos grupos presentan patrones normal y pseudo normal sin predominio de ninguno. El patrón de disfunción severa o flujo restrictivo (Ferraris, 2007; Fuentes, 2008) nada más se encontró en un animal del grupo B. El patrón de relajación retardada en los perros del grupo B ya ha sido reportado por Pascon et al. (2010) en perros con infección por *T. cruzi* sin CMD, pero no ha sido descrito en perros positivos con CMD, aunque éste y los demás patrones encontrados, son consistentes con la fisiopatología de la CMD (Chetboul, 2016).

El intervalo de predicción de 95% ha sido empleado antes para determinar o caracterizar los valores normales para las mismas variables utilizadas aquí, pero en perros adultos sanos (Gonçalves et al., 2002; Cornell et al., 2004). Debido al tamaño de la muestra (130 animales), no se puede afirmar que se trata de un número representativo de una población desconocida de perros cardiópatas con infección por *T. cruzi*, sin embargo, se trata del único rango de valores que caracterizan a los indicadores ecocardiográficos de estructura y función del ventrículo izquierdo en perros cardiópatas positivos a *T. cruzi* reportado hasta el momento. Los resultados obtenidos son de particular importancia pues permiten una aproximación al comportamiento de estas variables en perros que todavía no desarrollan la CMD. Se debe señalar que las alteraciones aquí encontradas, al proceder de una población no controlada, pueden estar asociadas no sólo a la infección por *T. cruzi*, pues es posible que existan otras enfermedades o procesos crónico-degenerativos presentes en los pacientes

estudiados. Sin embargo, este es el panorama real en el que se encuentra en campo a la infección natural por *T. cruzi* en perros.

Conclusiones

Los valores de los indicadores ecocardiográficos de la estructura y función cardíaca del ventrículo izquierdo obtenidos en este estudio permiten caracterizar sus alteraciones en perros cardiópatas con infección natural por *T. cruzi*.

Clasificar a los animales de acuerdo a la severidad de los cambios en los indicadores, permitió corroborar que la CMD es una condición terminal de la etapa crónica sintomática de la infección por *T. cruzi* en perros, pues el reducido número de sujetos que la presentaban confirmó que la mayoría de los animales tardan en desarrollarla o mueren antes de hacerlo.

Las alteraciones más frecuentes en perros sin CMD son disminución del DVID (33.91%), el DVIs (35.65%), de la FA (25.22%) y engrosamiento del SIVs (20%). En perros con CMD se encontró con más frecuencia dilatación del DVID (100%), del DVIs (26.67%), engrosamiento del SIVs (26.67%) y disminución de la FA (33.34%). La alteración más frecuente en los patrones de flujo en ambos grupos fue el patrón de relajación retardada.

Las variables de estructura SIVd, DVID, PVID y DVIs fueron estadísticamente diferentes entre perros con y sin CMD. No se encontraron diferencias en los indicadores de función sistólica y diastólica.

Los patrones de flujo transmitral no están asociados a la severidad del daño cardíaco en perros cardiópatas con Tripanosomiasis Americana.

El rango de valores del índice de predicción es el primer reporte de caracterización de los indicadores ecocardiográficos de estructura y función del ventrículo izquierdo de perros cardiópatas positivos a *T. cruzi*, aquellos donde hubo diferencia estadística permiten vislumbrar el progreso del daño en tales estructuras antes de que se desarrolle la CMD.

Las alteraciones ecocardiográficas caracterizadas en este estudio reflejan el comportamiento de la infección por *T. cruzi* en perros en condiciones de campo.

Declaración de conflicto de intereses

Ninguno de los autores tiene alguna relación financiera o personal que pudiera influenciar o sesgar inapropiadamente el contenido de este artículo.

Agradecimientos

Al personal médico del Hospital Veterinario para Perros y Gatos de la Universidad Autónoma de Yucatán, particularmente al MVZ Esp. Manuel Márquez, por su valiosa colaboración en el manejo de los animales y toma de muestras.

Referencias

- Barr, S. C., Holmes, R. A. y Klei, T. R., 1992. Electrocardiographic and echocardiographic features of trypanosomiasis in dogs inoculated with North American *Trypanosoma cruzi* isolates. *American Journal of Veterinary Research* 53(4):521-527.
- Boon, J. A., 2010. *Veterinary echocardiography*. Second ed. Iowa State University Press, Ames, IA.
- Boon, J. A., 2016. *Two-Dimensional and M-Mode Echocardiography for the Small Animal Practitioner*. Second edition ed. Wiley-Blackwell, United States.
- Camacho, A. A. y De Oliveira, R., 2007. Cardiopatía chagásica en caninos. En: *Afecciones Cardiovasculares en Pequeños Animales*, Inter-Médica, Buenos Aires, p. 289 - 295.
- Carvalho, C. M. E., Andrade, M. C. R., Xavier, S. S., Mangia, R. H. R., Britto, C. C., Jansen, A. M., Fernandes, O., Lannes-Vieira, J. y Bonecini-Almeida, M. D. 2003. Chronic Chagas' disease in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*): Evaluation of parasitemia, serology, electrocardiography, echocardiography, and radiology. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 68(6):683-691.
- Chetboul, V., 2016. Dilated Cardiomyopathy and Other Cardiomyopathies in Dogs, En: *Clinical Echocardiography of the Dog and Cat*, Elsevier Masson, St. Louis. p. 181-205.
- Chetboul, V., Sampedrano, C. C., Concordet, D., Tissier, R., Lamour, T., Ginesta, J., Gouni, V., Nicolle, A. P., Pouchelon, J. L. y Lefebvre, H. P., 2005. Use of quantitative two-dimensional color tissue Doppler imaging for assessment of left ventricular radial and longitudinal myocardial velocities in dogs. *American Journal of Veterinary Research* 66(6):953-961.

- Cornell, C. C., Kittleson, M. D., Della Torre, P., Häggström, J., Lombard, C. W., Pedersen, H. D., Vollmar, A. y Wey, A., 2004. Allometric Scaling of M-Mode Cardiac Measurements in Normal Adult Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 18(3):311-321.
- Cunha-Neto, E., Teixeira, P. C., Nogueira, L. G. y Kalil, J., 2011. Autoimmunity. En: *Advances in Parasitology*, Vol 76: Chagas Disease, Elsevier Academic Press Inc, San Diego. p. 129-152.
- de Lana, M., Chiari, E. y Tafuri, W.L., 1992. Experimental Chagas' disease in dogs. *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz* 87, 59-71.
- de Madron, E., 2016a. Assessment of Diastolic Function, En: *Clinical Echocardiography of the Dog and Cat*, Elsevier, St. Louis, MO, USA, pp. 127-138.
- de Madron, E., 2016b. Global Left Ventricular Systolic Function Assessment, En: *Clinical Echocardiography of the Dog and Cat*, Elsevier, St. Louis, MO, USA, pp. 111-125.
- de Madron, E., 2016c. Normal Views: 2D, TM, Spectral and Color Doppler, En: *Clinical Echocardiography of the Dog and Cat*, Elsevier, St. Louis, MO, USA, pp. 13-19.
- de Oliveira, L. F. L., Romano, M. M. D., de Carvalho, E. E. V., Cabeza, J. M., Salgado, H. C., Fazan, R, Costa, R. S., da Silva, J. S., Higuchi, M. D., Maciel, B. C. et al., 2016. Histopathological Correlates of Global and Segmental Left Ventricular Systolic Dysfunction in Experimental Chronic Chagas Cardiomyopathy. *Journal of the American Heart Association* 5(1):11.
- Espinoza, B., Rico, T., Sosa, S., Oaxaca, E., Vizcaino-Castillo, A., Caballero, M. L. y Martinez, I., 2010. Mexican *Trypanosoma cruzi* *T. cruzi* I Strains with Different Degrees of Virulence Induce Diverse Humoral and Cellular Immune Responses in a Murine Experimental Infection Model. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*:10.
- Ferraris, S. R., 2007. Ecocardiografía. En: *Afecciones cardiovasculares en pequeños animales*. Intermédica, Buenos Aires. p. 129 - 177.
- Fuentes, V. L., 2008. Echocardiography and Doppler ultrasound. En: *Manual of canine and feline cardiology*. Elsevier Health Sciences, St. Louis, Missouri. p. 77 - 92.
- Gallay-Lepoutre, J., Bélanger, M. C. y Nadeau, M. E., 2016. Prospective evaluation of Doppler echocardiography, tissue Doppler imaging and biomarkers measurement for the detection of doxorubicin-induced cardiotoxicity in dogs: A pilot study. *Research in Veterinary Science* 105:153-159.
- García-Álvarez, A., Sitges, M., Pinazo, M. J., Regueiro-Cueva, A, Posada, .E., Poyatos, S., Ortiz-Pérez, J. T., Heras, M., Azqueta, M., Gascón, J. et al., 2010. Chagas

Cardiomyopathy: The Potential of Diastolic Dysfunction and Brain Natriuretic Peptide in the Early Identification of Cardiac Damage. Public Library of Science Neglected Tropical Diseases 4(9):8.

- Garzoni, L. R., Adesse, D., Soares, M. J., Rossi, M. I. D., Borojevic, R. y de Meirelles, M. D. L., 2008. Fibrosis and hypertrophy induced by *Trypanosoma cruzi* in a three-dimensional cardiomyocyte-culture system. Journal of Infectious Diseases 197(6):906-915.
- Gompf, R.E., 2016. History and physical examination, En: Manual of canine and feline cardiology, Fifth ed., Elsevier, St. Louis, MO, USA, pp. 3-24.
- Gonçalves, A. C., Orton, E. C., Boon, J. A. y Salman, M. D., 2002. Linear, logarithmic, and polynomial models of M-mode echocardiographic measurements in dogs. American Journal of Veterinary Research 63(7):994-999.
- Graiff, D. S. 2010. Relación entre perros seropositivos a *Trypanosoma cruzi* y alteraciones electrocardiográficas compatibles con miocardiopatía chagásica canina en la localidad de La Para (Córdoba-Argentina). Tesis, Maestría en Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral, Argentina.
- Guedes, P.M.M., Veloso, V.M., Afonso, L.C.C., Caliari, M.V., Carneiro, C.M., Diniz, L.F., Marques-da-Silva, E.A., Caldas, I.S., Do Valle Matta, M.A., Souza, S.M., et al., 2009. Development of chronic cardiomyopathy in canine Chagas disease correlates with high IFN- γ , TNF- α , and low IL-10 production during the acute infection phase. Veterinary Immunology and Immunopathology 130, 43-52.
- Guedes, P. M. M., Veloso, V. M., Caliari, M. V., Carneiro, C. M., Souza, S. M., de Lana, M., Chiari, E., Bahia, M. T. y Galvao, L. M. C., 2007. *Trypanosoma cruzi* high infectivity in vitro is related to cardiac lesions during long-term infection in Beagle dogs. Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz 102(2):141-147.
- Jiménez-Coello, M., Poot-Cob, M., Ortega-Pacheco, A., Guzman-Marin, E., Ramos-Ligonio, A., Sauri-Arceo, C. H. y Acosta-Viana, K. Y., 2008. American Trypanosomiasis in Dogs from an Urban and Rural Area of Yucatan, Mexico. Vector-Borne and Zoonotic Diseases 8(6):755-761.
- Jiménez-Coello, M., Acosta-Viana, K. Y., Guzmán-Marín, E., Bárcenas-Irabién, A. y Ortega-Pacheco, A., 2015. American trypanosomiasis and associated risk factors in owned dogs from the major city of Yucatan, Mexico. Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases 21:37.
- Kirchhoff, L. V. 2011. Epidemiology of American Trypanosomiasis (Chagas Disease). En: Advances in Parasitology, Vol 75: Chagas Disease, Elsevier Academic Press Inc, San Diego. p. 1-18.

- Kittleson, M.D. y Kienle, R.D., 1998. Pulmonary Arterial and Systemic Arterial Hypertension, En: Small Animal Cardiovascular Medicine. Mosby, St. Louis, MO, USA, pp. 433-448.
- Meurs, K. M., Anthony, M. A., Slater, M. y Miller, M. W., 1998. Chronic *Trypanosoma cruzi* infection in dogs: 11 cases (1987-1996). Journal of the American Veterinary Medical Association 213(4):497.
- Miles, M. A., Llewellyn, M. S., Lewis, M. D., Yeo, M., Baleela, R., Fitzpatrick, S., Gaunt, M. W. y Mauricio, I L., 2009. The molecular epidemiology and phylogeography of *Trypanosoma cruzi* and parallel research on *Leishmania*: looking back and to the future. Parasitology 136(12):1509-1528.
- Pascon, J. P. D., Neto, G. B. P., Sousa, M. G., Paulino, D. y Camacho, A. A., 2010. Clinical characterization of chronic chagasic cardiomyopathy in dogs. Pesquisa Veterinaria Brasileira 30(2):115-120.
- Pereira-Nunes, M.C., Dones, W., Morillo, C.A., Justiniano-Encina, J. y Ribeiro, A.L., 2013. Chagas Disease An Overview of Clinical and Epidemiological Aspects. Journal of the American College of Cardiology 62, 767-776.
- Poteet, B.A., 2016. Radiology of the heart, En: Manual of canine and feline cardiology, Fifth ed., Elsevier, St. Louis, MO, USA, pp. 25-48.
- Quiroz-Romero, H., 1990. Parasitología, Limusa, México.
- Ramírez, J. D., Guhl, F., Rendón, L. M., Rosas, F., Marín-Neto, J. A. y Morillo, C. A. 2010. Chagas Cardiomyopathy Manifestations and *Trypanosoma cruzi* Genotypes Circulating in Chronic Chagasic Patients. Public Library of Science Neglected Tropical Diseases 4(11):9.
- Rassi Jr., A., Rassi, A. y Marin-Neto, J. A., 2010. Chagas disease. The Lancet 375(9723):1388-1402.
- SAS Inst. Inc., 1993. SAS/STAT User's Guide, Version 6. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA.
- Sedesol, C., 2007. Inegi, 2007: Delimitación de las zonas metropolitanas de México 2005. Sedesol, Conapo e Inegi, México, DF.
- Segura-Correa, J.C. y Herrera-Camacho, J., 2016. Análisis estadístico de experimentos en un diseño completamente al azar. Comparación de medias de tratamientos para un diseño completamente al azar simple con desigual número de repeticiones por tratamiento, En: Diseño y análisis estadísticos de experimentos agropecuarios. Universidad Michoacana San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Mich. Mex., pp. 34-35.

- Sisson, D.D., 2010. Pathophysiology of heart failure, En: Textbook of Veterinary Internal Medicine, 7th ed. Saunders Elsevier, St. Louis, MO, USA, pp. 1143-1158.
- Taylor, M. A., Coop, R. L. y Wall, R. L., 2016. Veterinary Parasitology. Wiley Blackwell, New Delhi.
- Tilley, L., y Burtnick, N., 2009. ECG for the small animal practitioner. Teton NewMedia, United States.
- Valerio, L., Roure, S., Sabria, M., Balanzo, X., Valles, X. y Seres, L. 2011. Clinical, electrocardiographic and echocardiographic abnormalities in Latin American migrants with newly diagnosed Chagas disease 2005-2009, Barcelona, Spain. Eurosurveillance 16(38):5-10.
- Vitt, J. P., Saunders, A. B., O'Brien, M. T., Mansell, J., Ajithdoss, D. K. y Hamer, S. A., 2016. Diagnostic Features of Acute Chagas Myocarditis with Sudden Death in a Family of Boxer Dogs. Journal of Veterinary Internal Medicine 30(4):1210-1215.
- Weese, J. S., Peregrine, A. S. Anderson, M. E. C. y Fulford, M. B., 2011. Parasitic Diseases. En: S. Companion Animal Zoonoses. Iowa State University Press, Ames, Iowa. p. 3-107.
- Yacoub, S., Birks, E. J., Slavik, Z. y Henein, M. 2003. Early detection of myocardial dysfunction in Chagas disease using novel echocardiographic indices. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 97(5):528-534.

ANEXO 1

Cuadro 5. Número de casos por grupo para cada combinación de método diagnóstico de *T. cruzi*

Grupo	Métodos diagnósticos			No. De casos
	PCR + SEROLOGÍA+	PCR + SEROLOGÍA-	PCR - SEROLOGÍA+	
A	11	3	1	15
B	86	23	6	115
Total	97	26	7	130

Serología=ELISA + Western blot.