
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO EL HOMBRE Y SU AMBIENTE
LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

INFORME FINAL DE SERVICIO SOCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE
LICENCIADA EN BIOLOGÍA

**Hallazgos electrocardiográficos después del tratamiento
con Anfotericina B en perros con enfermedad de Chagas
experimental**

QUE PRESENTA LA ALUMNA

Laura Imelda Espinosa Ramírez

Matrícula
2142030066

ASESORES

Asesora Interna

Dra. Judith Castellanos Moguel
Investigadora Titular A
Depto. El Hombre y su Ambiente
UAM-Xochimilco
No. Económico 28248
Vo. Bo.

Asesora Externa

Dra. Minerva Arce Fonseca
Laboratorio de Inmunología
Molecular y Proteómica
Instituto Nacional de Cardiología
"Ignacio Chávez"
Vo. Bo.

Ciudad de México

2020

Resumen

La enfermedad de Chagas, causada por el parásito protozoo *Trypanosoma cruzi*, es un importante problema de salud pública en la mayor parte de América Latina. Una prioridad es el desarrollo de nuevos tratamientos debido a la poca eficacia de los actuales. En este trabajo se trató con Anfotericina B a perros infectados experimentalmente con *T. cruzi* y evaluar el efecto sobre la función cardíaca mediante análisis del registro electrocardiográfico comparativo antes de la infección y a los tres meses después de esta. Para este fin se utilizaron 16 perros domésticos de la raza Náhuatl divididos en seis grupos: 1. Control sano (n=2) que no se infectaron y no recibieron ningún tipo de tratamiento, 2. Benznidazol (n=3) que fueron infectados y tratados con Benznidazol, 3. Anfotericina B (n=5) que fueron infectados y tratados con Anfotericina B, 4. Crónicos (n=2) que fueron infectados hace más de 1.5 años (uno tratado con Benznidazol y otro sin tratamiento alguno), 5. Sano/AmB (n = 2) que no se infectaron y que recibieron tratamiento con Anfotericina y 6. S/Tx (n = 2) perros que fueron infectados y sin tratamiento alguno. Los animales fueron manejados de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana 0062 (NOM-0062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio). El inóculo de infección fue de 2×10^6 parásitos de la cepa H8

(MHOM/MX/1994/H8) de *T. cruzi*; para verificar el establecimiento de la infección se realizó el diagnóstico parasitológico directo en fase aguda y se tomaron electrocardiogramas para identificar alguna anomalía cardíaca en esta etapa. Se determinó la presencia del parásito desde el día 11 postinfección. Se analizaron los registros electrocardiográficos y se compararon los resultados obtenidos antes y después de la infección y tratamiento experimental sin encontrar diferencias en esta etapa del curso de la enfermedad de Chagas. En conclusión, durante la etapa aguda de la enfermedad de Chagas experimental no se observó ningún efecto del tratamiento con Anfotericina B sobre la conducción eléctrica del corazón en perros infectados con la cepa H8 de *T. cruzi*.

Palabras clave: *Trypanosoma cruzi*, perro, electrocardiograma, Anfotericina B.

Índice

	Pág.
Introducción	1
Epidemiología	2
Ciclo de vida de <i>Trypanosoma cruzi</i>	4
Etapas de la enfermedad de Chagas	5
El perro como reservorio de la enfermedad de Chagas	8
El perro como modelo de investigación para la enfermedad de Chagas	8
El corazón órgano blanco en la enfermedad de Chagas	10
El electrocardiograma (ECG)	12
Diagnóstico de la enfermedad de Chagas	16
Tratamiento farmacológico	17
Tratamiento experimental (Anfotericina B)	19
Planteamiento del problema	22
Objetivo general	22
Objetivos específicos	22
Metodología	23
Animales de experimentación	23
Determinación del establecimiento de la infección (microhematocrito)	24
Tratamiento experimental	24
Realización de electrocardiogramas (ECG) a los tres meses postinfección	25
Resultados	31
Discusión	36
Conclusión	39
Referencias	40
Anexos	45

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas es causada por un protozoo conocido como *Trypanosoma cruzi*; es transmitida por insectos hematófagos hemípteros de la familia Reduviidae y de la subfamilia Triatominae. Esta enfermedad afecta la salud, bienestar y productividad de un gran número de humanos. Fue descrita por Carlos Chagas como una enfermedad progresiva, crónica y debilitante (Cermeño, 2013). El perro es uno de los reservorios de *T. cruzi* (Blandenier y López, 2017) que en zonas endémicas es el que con mayor frecuencia se ha encontrado infectado con el parásito, por ejemplo, se han reportado casos en Paraguay, Argentina, Brasil, Venezuela, México, Panamá, Colombia, Costa Rica y Estados Unidos (Acosta y López, 2013). La cardiopatía Chagásica crónica es la manifestación más grave de la enfermedad y afecta al 30% de los pacientes portadores de *T. cruzi*; se asocia con frecuencia a anomalías del ritmo y la conducción eléctrica del corazón y a episodios trombóticos (Pérez *et al.*, 2017). En la actualidad solo existen dos medicamentos controlados, Benznidazol y Nifurtimox como opciones terapéuticas, y a pesar de que se han obtenido resultados satisfactorios con el uso de estos medicamentos en fase aguda de la enfermedad, la efectividad en la fase crónica es notoriamente menor (Sánchez *et al.*, 2016). Los efectos adversos que se presentan por el uso de estos medicamentos son alteraciones digestivas (baja de peso, malestar gástrico, náuseas y vómito), hematológicas (leucopenia, trombocitopenia, agranulocitosis), dermatológicas y neurológicas (Werner y Zulantay, 2011). Aunado a que en la actualidad no existe un tratamiento tripanocida eficaz, sin efectos colaterales y de fácil adquisición, diversos grupos de investigación se han dado a la tarea de probar nuevos tratamientos; en esta investigación se analizó si el tratamiento con Anfotericina B tiene efecto contra el parásito y si este repercute en la conducción eléctrica del corazón en perros con enfermedad de Chagas experimental en etapa aguda.

Epidemiología

La enfermedad de Chagas es un problema relevante, tanto social como económico en muchos países de América Latina, por lo que la Organización Mundial de la Salud (OMS) la reconoce como una de las 13 enfermedades tropicales más desatendidas del mundo y la Organización Panamericana de la Salud como una enfermedad de la pobreza (Pérez *et al.*, 2017). En las últimas décadas del siglo XX se ha expandido a otros territorios debido a la migración, urbanización y globalización (Amieva, 2014).

La OMS estima que la enfermedad de Chagas afecta de 7 a 8 millones de individuos, especialmente en América Latina; se considera en riesgo de infección a un mínimo de 110 millones de individuos en 21 países (Argentina, Brasil, Chile, Uruguay, Paraguay, Perú, Ecuador, Bolivia, Venezuela, Colombia, Guyana Francesa, Surinam, Costa Rica, El Salvador, Honduras, Nicaragua, Panamá, Belice, Guatemala y México); sin embargo, los movimientos poblacionales han modificado el perfil epidemiológico de esta enfermedad, por lo que se han reportado casos en los Estados Unidos de América, Canadá, muchos países europeos y algunos del Pacífico Occidental (OMS, 2018).

En México hay un total de 18 áreas endémicas que incluyen los estados de Oaxaca, Jalisco, Yucatán, Chiapas, Puebla, Guerrero, Hidalgo y Morelos, todos ellos con zonas rurales. Sin embargo, la mayor prevalencia se ha observado en los estados de Hidalgo, San Luis Potosí, Veracruz, y Tamaulipas, región llamada La Huasteca (Carabarin-Lima *et al.*, 2013).

Existen diversos mecanismos de transmisión (Amieva, 2014; Díaz y González, 2014; Carabarin-Lima *et al.*, 2013; Náquira y Cabrera, 2009):

- **Vía vectorial.** La transmisión vectorial de *T. cruzi* ha sido el mecanismo más importante por el cual los humanos se infectan con el parásito a través de las heces del vector, al ser depositadas cerca de una lesión de la piel o de las membranas mucosas.

Las vías de transmisión no vectorial son las más problemáticas en las áreas urbanizadas y por las que se distribuye la enfermedad a zonas no endémicas. Estas son:

- **Transfusión de sangre.** Es la segunda vía de transmisión de importancia; anteriormente el problema se limitaba solo a Latinoamérica pero debido al gran número de inmigrantes, la enfermedad se ha estado distribuyendo a poblaciones, ciudades y países desarrollados no endémicos, como Estados Unidos, Canadá, España, Japón y Australia.
- **Trasplante de órganos.** En zonas no endémicas no se hace la búsqueda intencionada del parásito y por ello es posible que existan donantes infectados; hay poca información de casos reportados. Aunque también por esta vía existe la posibilidad de adquirir o reactivar la enfermedad latente.
- **Transmisión congénita.** De madres infectadas al producto; ocurre cuando el parásito logra atravesar la placenta de la madre seropositiva e infecta al hijo durante el embarazo o el parto.
- **Accidentes de laboratorio.** Generalmente ocurre por el manejo inadecuado de material biológico contaminado, por ejemplo la manipulación de triatominos, cultivos, inoculación de animales de experimentación, manejo de muestras serológicas de pacientes.

- **Infección por vía oral.** Puede ocurrir en situaciones donde la contaminación de los alimentos se produce por el contacto con las heces del vector infectado, por ejemplo, el jugo de caña y de frutas (açai, guayaba y naranja); comida casera como: sopa, caldo, leche, agua y carne de caza; asimismo, puede ocurrir cuando inadvertidamente se tritura el insecto durante la preparación de los alimentos o cuando se contaminan con secreciones anales de marsupiales infectados.

Ciclo de vida de *Trypanosoma cruzi*

El parásito *T. cruzi* presenta diferentes formas conocidas como: **epimastigote**, **amastigote** y **tripomastigote** metacíclico (TM) y sanguíneo (TS).

El ciclo de vida se inicia cuando el triatómino ingiere el parásito en su estadio de TS circulante en la sangre del hospedador vertebrado infectado. Esta forma alcanza el intestino medio del insecto, es ahí donde se diferencia a epimastigote el cual se multiplica repetidamente por división binaria y se adhiere a las membranas perimicrovilares de las células intestinales para diferenciarse a TM en un proceso conocido como metacicloogénesis; ambas formas del parásito pueden ser detectadas en las heces y orina del vector. Cuando los TM infectan un hospedero vertebrado invaden células de diferentes tejidos y se diferencian en amastigotes, los cuales se replican en el citoplasma. Después de varias rondas de división celular, se diferencian a tripomastigotes altamente móviles, los cuales rompen la membrana celular y son liberados al torrente sanguíneo. Estos TS pueden infectar otras células o bien ser ingeridos por el insecto vector durante la ingesta de sangre del hospedador, completándose de esta manera el ciclo vital del parásito (Díaz y González, 2014) (Fig. 1).

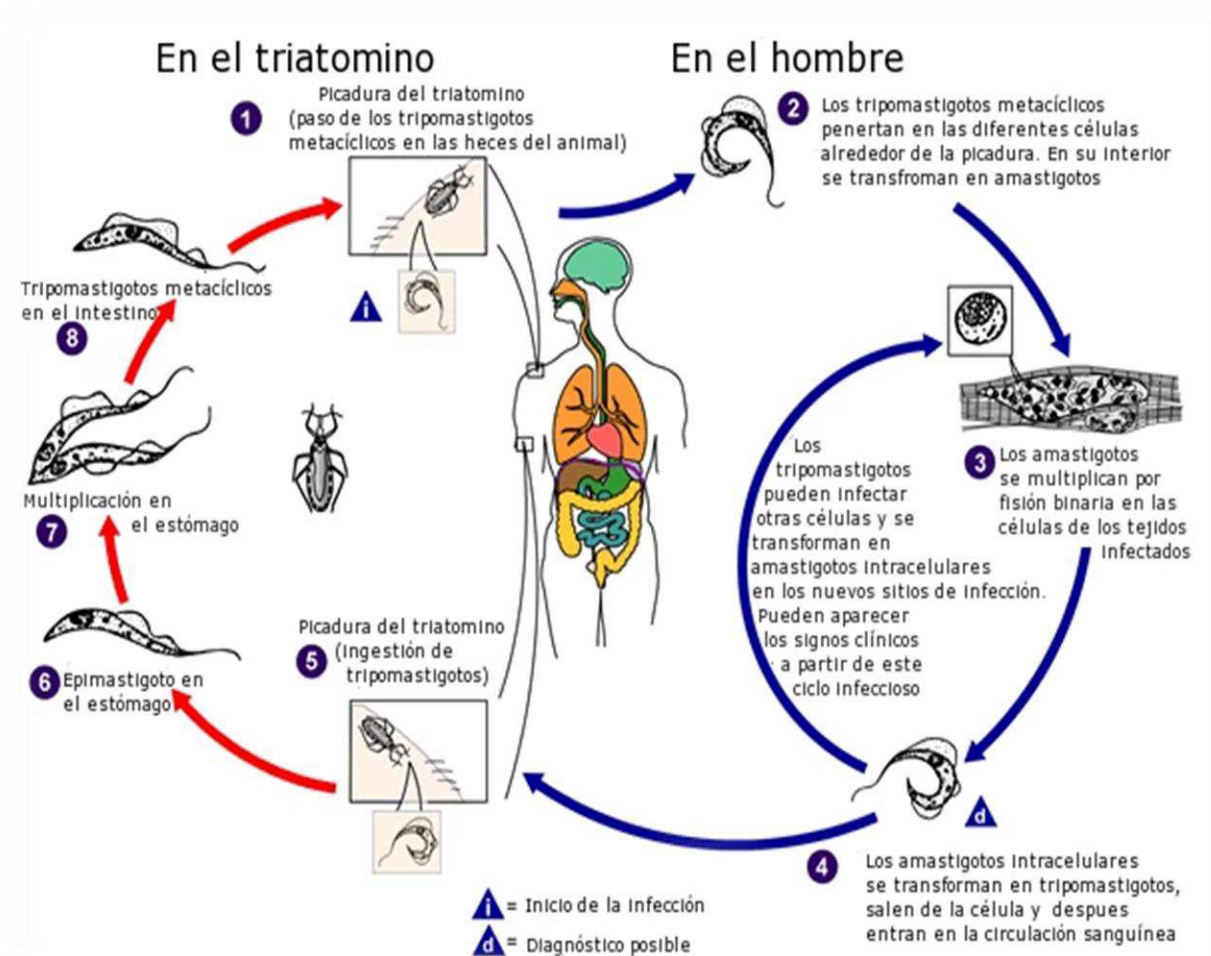


Figura 1. Ciclo de vida de *Trypanosoma cruzi*.

Se multiplica repetidamente por división binaria (figura 1-7)

(Recuperado de <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/parasitologia/trypanosomosis.html>)

Etapas de la enfermedad de Chagas

Etapas de la enfermedad de Chagas

Etapas de la enfermedad de Chagas

Etapas de la enfermedad de Chagas

Etapas de la enfermedad de Chagas

El pronóstico de la enfermedad depende de una serie de factores tales como la edad, el estado de nutrición y el tipo e intensidad de las manifestaciones presentadas por el paciente. La etapa aguda (Tabla 1) se caracteriza por un proceso que se inicia alrededor de la primera y segunda semana tras la inoculación del parásito, presentando sintomatología general como fiebre, lesiones

cutáneas, signo de Romaña (edema bpalpebral unilateral), dolor de cabeza, linfadenopatías, palidez, dolores musculares, dificultad para respirar y dolor torácico (Marchena *et al.*, 2006; OMS, 2018).

Etapa crónica asintomática

Comienza cuando la parasitemia se vuelve indetectable por los métodos parasitológicos directos, no presenta síntomas ni signos evidentes; sin embargo, las pruebas serológicas son positivas, puede durar toda la vida, o derivar en la etapa crónica sintomática después de meses o años (Ruíz, 2015).

Etapa crónica sintomática

Alrededor del 10% al 30% de los pacientes con infección inicial pueden desarrollar la fase crónica de la enfermedad, y ocurre aproximadamente después de cinco a 20 años de la infección. Se caracteriza por presentarse en forma de cardiopatía y/o alteraciones digestivas; la evolución a la cronicidad de los individuos afectados corresponde el 27% a cardiopatías, 6% a cuadros digestivos y 3% a desórdenes en el sistema nervioso (Pereira *et al.*, 2009); en ocasiones la enfermedad adquiere un curso prolongado especialmente en los adultos de 20 a 50 años de edad que les puede ocasionar la muerte (Ruíz, 2015). En esta etapa la manifestación más importante es la miocarditis chagásica crónica, la cual cursa con miocardiopatía dilatada con compromiso de las cuatro cámaras y aneurismas, en especial apicales, disfunción contráctil y por consiguiente insuficiencia cardíaca sistólica, también se presenta inflamación debida a la reacción inmune contra el parásito; por otra parte, el daño en el sistema de conducción se caracteriza por disfunción sinusal con bradicardia significativa, paros sinusales y síndrome bradicardia-taquicardia, así como también diversos grados de bloqueo atrioventricular y del sistema His-

Purkinje, el bloqueo completo de la rama derecha del haz de His, más el bloqueo de la división anterior de la rama izquierda (Koberle, 1961).

Tabla 1. Manifestaciones clínicas en seres humanos.

Etapas	Inicio de la etapa	Parasitemia	Semiología
Aguda	De 1 a 2 semanas tras la inoculación del parásito	Elevada (Martínez, 2014)	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Lesión cutánea ➤ Signo de Romaña ➤ Dolor de cabeza ➤ Linfadenopatía ➤ Palidez ➤ Dolores musculares ➤ Dificultad para respirar ➤ Dolor abdominal o torácico (OMS, 2018)
Crónica asintomática	Después de 2 meses	Baja (Martínez, 2014)	Ninguno
Crónica sintomática	De 5 a 20 años y solo en el 10-30% de los casos	Baja (Martínez, 2014)	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Desarrollo de lesiones cardíacas y digestivas (principalmente en esófago y colon) ➤ Afectaciones en el corazón con alteraciones en la contractilidad y conductibilidad con insuficiencia cardíaca progresiva y cardiomegalia ➤ Desarrollo de lesiones en el sistema nervioso periférico (Salazar et al., 2016)

El perro como reservorio en la enfermedad de Chagas

El reservorio natural se refiere al hospedador de largo plazo de un patógeno que causa una enfermedad infecciosa zoonótica; en el caso de la enfermedad de Chagas, el agente etiológico *T. cruzi* afecta no solo a humanos sino también a gran diversidad de animales silvestres y domésticos. Entre los reservorios silvestres destacan los armadillos, roedores y marsupiales.

Los perros son considerados como los reservorios domésticos más importantes y pueden contribuir a la transmisión de *T. cruzi* cuando se cohabita con los insectos vectores de la familia *Reduviidae* (Turriago *et al.*, 2008), ya que los perros, en la mayoría de los casos, están presentes como compañía y guardia de los hogares, especialmente en zonas rurales, y entran y salen con mucha facilidad de la vivienda. Por otro lado, en los estudios epidemiológicos, la existencia de perros seropositivos a *T. cruzi* en una localidad indica la posibilidad de transmisión activa de la enfermedad de Chagas permitiendo monitorear la transmisión de la misma en el pasado más reciente. Así, ha sido posible establecer que el perro constituye un nexo entre los ciclos doméstico, peridoméstico y selvático de *T. cruzi* (Blandenier y Lopez, 2017).

La infección de los reservorios puede ocurrir por ingesta de triatomíneos contaminados o por sus heces cuando este parásito se alimenta de ellos en la naturaleza (Ruíz, 2015).

El perro como modelo de investigación para la enfermedad de Chagas

La utilización del perro como animal de experimentación se inició hace dos milenios; la inclusión es debido a las grandes similitudes anatómicas y fisiológicas con el ser humano (Viniegra *et al.*, 2002); además, es un animal gregario con un alto índice de sociabilidad con el ser humano, lo cual facilita el manejo. Se ha utilizado en trabajos experimentales del área médica como por ejemplo en estudios cardiopulmonares, de trasplante de órganos, isquemia cerebral, radiológicos, regulación de presión arterial, así como ensayos farmacológicos, toxicológicos y de fisiología. La

raza de perro Beagle es la más usada por ser de pelo corto, sociable y de tamaño chico a mediano (Ramírez, 2002).

Se considera que el perro es el animal más adecuado como modelo experimental de la enfermedad de Chagas debido a que todas las etapas de la enfermedad han sido reproducidas en el modelo canino (Tabla 2) (Blandenier y Lopez, 2017).

Tabla 2. Signos clínicos de la enfermedad de Chagas en perros

Etapa	Inicio de la etapa	Signos
Aguda	Entre 2 o 4 semanas (Ramírez, 2006)	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Fiebre ➤ Anorexia ➤ Letargo ➤ Pelaje hirsuto ➤ Linfadenopatía ➤ Hepatomegalia ➤ Esplenomegalia ➤ Diarrea ➤ Edema palpebral (TCFSPH and IICAB, 2009)
Crónica asintomática	Se desconoce el dato	Ninguno (TCFSPH and IICAB, 2009)
Crónica sintomática		<ul style="list-style-type: none"> ➤ Cardiopatías (miocarditis crónica con dilatación cardíaca y arritmias) ➤ Muerte súbita (TCFSPH and IICAB, 2009)

El corazón, órgano blanco en la enfermedad de Chagas

Durante la etapa crónica de la enfermedad de Chagas el órgano más afectado es el corazón, con alteraciones en la contractilidad y conductibilidad, insuficiencia cardiaca progresiva y cardiomegalia. La enfermedad de Chagas es la causa más común de miocardiopatía infecciosa en el mundo, compromete varios tejidos cardiacos y presenta gran variedad de manifestaciones clínicas. Cuando la extensión del daño es pequeño las anormalidades son mínimas o ausentes y el trazo electrocardiográfico puede ser normal; regularmente los pacientes con estos hallazgos son asintomáticos hasta que los mecanismos cardiacos son incapaces de compensar la insuficiencia cardiaca; si en esta fase, o previamente, se administra el tratamiento antiparasitario, este será eficaz con muy buen pronóstico. Cuando el daño cardiaco evoluciona se presentan áreas de contracción anormal por alteraciones en la conducción por lesión parasimpática y los pacientes pueden iniciar con disnea progresiva; si el daño es severo se manifiesta como una disfunción segmentaria o global por la fibrosis y dilatación cavitaria con insuficiencia; la disnea es el síntoma más frecuente, aunque también se pueden presentar palpitaciones, taquicardia y algias precordiales (Salazar *et al.*, 2016).

La enfermedad de Chagas ha sido estudiada en el modelo canino por Aparicio-Burgos y colaboradores (2011). Ellos observaron que el 50% de los perros infectados experimentalmente con la cepa SylvioX10 de *T. cruzi* presentaron enfermedad cardiaca crónica sintomática asociada con cardiomegalia progresiva, arritmia, incluyendo bloqueo de rama derecha con hemibloqueo anterior izquierdo, miocarditis difusa con fibrosis focal e intersticial, y destrucción de miofibrillas autoperpetuante.

Por otra parte, Montenegro y colaboradores (2002) realizaron un estudio en Costa Rica en el que examinaron un grupo de 54 perros(21 machos y 33 hembras) de cinco aldeas rurales, con edades

entre 3 meses y 10 años, los cuales fueron infectados por *T. dimidiata*; fueron sometidos a tres pruebas serológicas: inmunofluorescencia indirecta, hemaglutinación indirecta y ELISA. Quince perros (27.7%) presentaron anticuerpos (seis de raza pura y nueve mestizos) y en tres de ellos el parásito también se demostró mediante xenodiagnóstico. Todos los animales positivos (excepto uno) y 9 animales negativos (grupo de control) fueron examinados por rayos X y electrocardiografía, revelando diferentes grados de cardiomegalia y alteración del ECG. En 14 perros infectados encontraron: bloqueo de rama derecha (1 perro), bajo voltaje del complejo QRS (un perro), taquicardia sinusal (un perro), alteraciones de la repolarización (cuatro perros) y alteraciones de la onda T (tres perros) y arritmia sinusal (nueve perros). Dos perros serológicamente positivos presentaron un ECG normal. Un perro mostró síntomas clínicos, con disnea, pérdida de peso y ascitis, y se extrajeron casi 5 litros de líquido serosanguinolento del abdomen.

Rodríguez-Morales y colaboradores (2012) trabajaron con 30 perros Beagle machos y hembras, con edades de 5 (\pm 1) meses infectados con la cepa Ninoa de *T. cruzi*; determinaron que los resultados de los electrocardiogramas fueron infarto de miocardio y/o pericarditis de segundo grado, bloqueo aurículo ventricular, agrandamiento del ventrículo izquierdo (dilatación o hipertrofia) y bloqueo de ramas.

El electrocardiograma (ECG)

El corazón es un órgano muscular hueco (Sisson y Grossman, 2003) cuya principal función es bombear sangre a todo el organismo para cubrir las demandas metabólicas de los tejidos y remover los productos de desecho. El bombeo lo realiza mediante una acción mecánica, que consiste en llenar las cavidades cardíacas durante la diástole y expulsar la sangre mediante la sístole; para realizar esta acción necesita de una actividad eléctrica en forma y tiempo para cumplir las distintas fases del ciclo cardíaco (Mucha y Belerenian, 2008).

La transmisión de los impulsos cardíacos a través del corazón durante cada latido sigue una secuencia específica (Cavilla, 2016): el origen es en el nodo sinusal, el cual se encuentra ubicado en la aurícula derecha, cerca de la desembocadura de las cavas, por lo que el impulso ahí originado primero despolariza la aurícula derecha y pasa a la izquierda, la excitación llega al nodo aurículo ventricular donde sufre un proceso de retardo que permite la despolarización auricular, el impulso viaja al Haz de His, de ahí a las ramas derecha e izquierda ventricular y finalmente a las fibras de Purkinje para despolarizar la masa ventricular (Mucha y Belerenian, 2008). Esta secuencia de transmisión eléctrica permite que las aurículas se contraigan antes que los ventrículos, resultando en el bombeo eficiente de sangre hacia la circulación sistémica y pulmonar (Cavilla, 2016).

El estudio electrocardiográfico registra la actividad eléctrica del corazón; se utiliza para detectar anomalías anátomo-funcionales, tales como arritmias, cambios anatómicos de las cámaras cardíacas, observar la respuesta a la medicación antiarrítmica, realización de un monitoreo pre, intra y post quirúrgico (Mucha y Belerenian, 2008).

El ECG se registra sobre papel milimetrado, donde cada cuadradito que lo compone tiene un tamaño de 1 mm de ancho x 1 mm de alto (Fig. 2). En los papeles electrocardiográficos existen

divisiones cada 5 mm. Es importante tener en cuenta que para la lectura del ECG el eje horizontal representará el tiempo en segundos (s) y el eje vertical representará el voltaje en milivoltios (mV). Antes de la toma del registro se debe calibrar la sensibilidad del electrocardiógrafo y la velocidad del papel, dicha velocidad puede ser de 25 mm/s o de 50 mm/s (Cavilla, 2016).

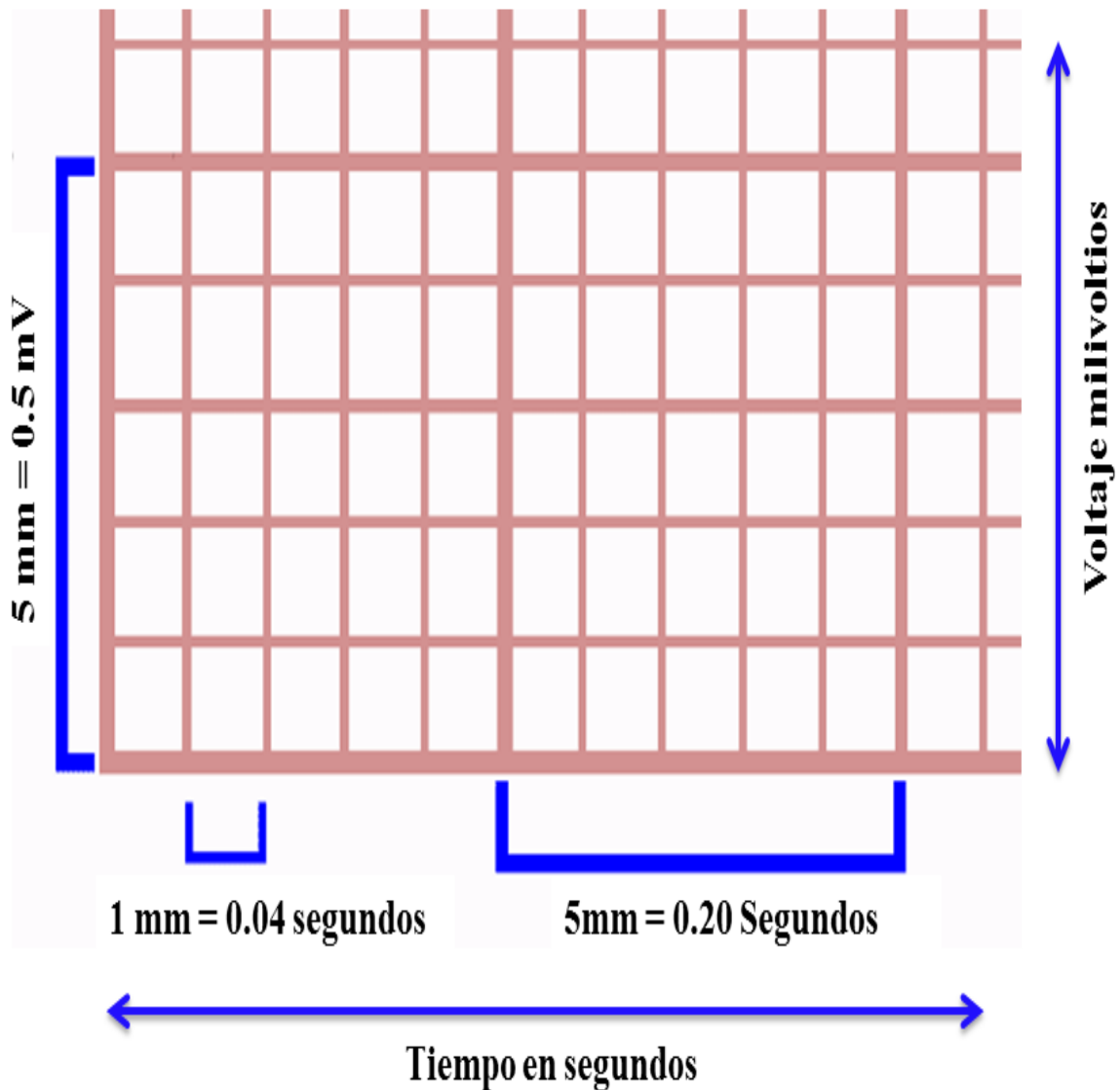


Figura 2. Papel electrocardiográfico. En el eje vertical se representa el voltaje (mV) y en eje horizontal el tiempo (s) (Cavilla, 2016).

El trazado electrocardiográfico (Fig. 3) se compone por ondas, intervalos y segmentos que deben representarse con una secuencia específica (French, 2008).

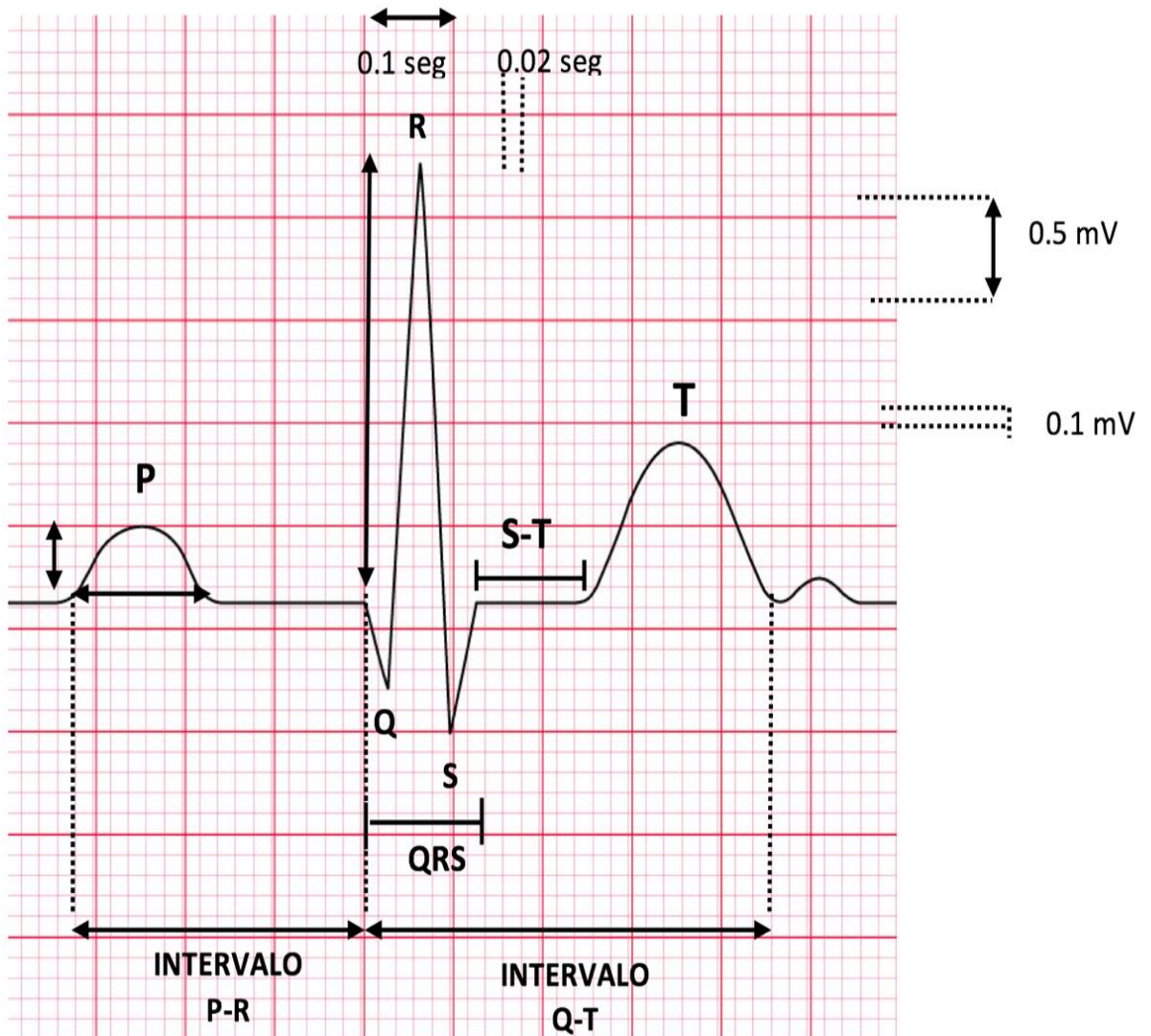


Figura 3. Componentes de un ECG (Tilley y Burnick, 1999).

Cada uno de los componentes del trazado electrocardiográfico representa un evento eléctrico cardíaco específico; los valores de referencia en perros se muestran en la tabla 3.

- Onda P: representa la despolarización de los atrios.
- Intervalo P-R: indica el tiempo que transcurre desde la salida del impulso en el nodo sinusal hasta alcanzar el nodo aurículo ventricular.
- Complejo QRS: indica la despolarización en el miocardio ventricular. En la derivación II, la onda Q se asocia a la despolarización del tabique interventricular, la onda R, a la despolarización del ápex y paredes libres de los ventrículos y, la onda S a la porción basal de los mismos.
- Segmento S-T: representa la fase temprana de la repolarización ventricular.
- Onda T: representa la repolarización ventricular.
- Intervalo Q-T: indica el tiempo de despolarización y repolarización ventricular y representa la sístole ventricular.

Tabla 3. Valores electrocardiográficos normales en perros (Cavilla, 2016).

Parámetro	Valor de referencia
FC	En razas de talla mediana: 80-120 lpm
Ritmo	Sinusal - Arritmia sinusal
Onda P	Altura: máx. 0.4 mV, Ancho: máx. 0.04 s
Intervalo P-R	0.06 hasta 0.13 s
Complejo QRS	RG máx. 0.06 mV y RP máx. 0.05 s
Onda R	RG hasta 3mV y RP hasta 2.5 mV
Intervalo Q-T	0.15 a 0.25 s
Segmento S-T	Elevación >0.15 mV, depresión >0.2 mV
Onda T	< 25% de R
EEM	+40 ° a +100 °

FC: Frecuencia cardíaca

lpm: latidos por minuto

EEM: eje eléctrico medio

RG: raza grande

RP: raza pequeña

Diagnóstico de la enfermedad de Chagas

Los **exámenes parasitológicos** directos son aquellos donde se detecta al parásito mediante microscopía. Estas técnicas solo son útiles en la etapa aguda de la enfermedad, ya que es cuando el parásito está presente en el torrente sanguíneo.

- **Observación microscópica de sangre en gota fresca:** identifica la presencia de tripomastigotes de *T. cruzi* en una muestra de sangre; se necesitan 2mL de sangre total con anticoagulante.
- **Gota gruesa:** se colocan de tres a cuatro gotas de sangre sin anticoagulante en un portaobjetos, para posteriormente teñirse y ser observadas al microscopio.
- **Método de concentración microstrout:** examen microscópico de la fracción leucoplaquetaria de la sangre total a partir de un microhematocrito del paciente en donde se hace la búsqueda de tripomastigotes de *T. cruzi*.
- **Xenodiagnóstico:** en esta técnica se realiza la búsqueda de tripomastigotes de *T. cruzi* al cabo de la metaciclologénesis en deyecciones de triatominos que han succionado sangre de pacientes. Se utilizan ninfas de insectos libres de infección.

El **examen molecular** se realiza mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR): se utilizan iniciadores específicos para amplificar un segmento del ADN de *T. cruzi* en muestras clínicas de pacientes; permite medir la carga parasitaria circulante (Salazar *et al.*, 2016).

Los **exámenes serológicos** permiten cuantificar la concentración de inmunoglobulinas; además de ser pruebas diagnósticas sirven para monitorizar la respuesta inmunológica del paciente chagásico después del tratamiento. Estas pruebas son:

- **Hemaglutinación indirecta (HAI):** este método se basa en la reacción de glóbulos rojos sensibilizados con *T. cruzi* que entran en contacto con anticuerpos específicos contra el parásito produciéndose una aglutinación (reacción positiva).
- **Ensayo inmuno absorbente ligado a enzimas (ELISA):** este método está basado en una técnica colorimétrica en la cual se cubren placas de poliestireno con antígeno del parásito; se agrega el suero en estudio, si el paciente está infectado las inmunoglobulinas presentes se adherirán al antígeno; los anticuerpos son evidenciados por una segunda inmunoglobulina a través de una reacción colorimétrica.
- **Inmunofluorescencia indirecta (IFI):** técnica que permite determinar la presencia de anticuerpos anti *T. cruzi* en diferentes muestras biológicas. Se preparan portaobjetos a los que se les adhieren epimastigotes de *T. cruzi* (parásito completo) obtenidos de cultivo. Si el suero del paciente tiene anticuerpos se produce una reacción antígeno-anticuerpo, la que se detecta con la adición de un segundo anticuerpo marcado con sustancias fluorescentes. Esta reacción se observa en un microscopio de fluorescencia (Díaz y González, 2014).

Tratamiento farmacológico

Actualmente existen solo dos fármacos contra la enfermedad de Chagas: **Benznidazol** y **Nifurtimox** (Díaz y González, 2014).

El Nifurtimox es un análogo de nitrofuranos. Tiene efecto tripanocida, actúa contra las formas de amastigote y tripomastigote de *T. cruzi*. Su uso fue probado en enfermedad de Chagas en el año 1965 (Werner *et al.*, 2008).

La administración de Nifurtimox es de 8 mg/kg/día fraccionado cada 8 horas, durante 60 a 90 días en adultos. En niños se usa en dosis de 10 mg/kg/día por el mismo periodo (Díaz y

González, 2014); se ha demostrado que es efectivo en las fases aguda y crónica, con una cura parasitológica de 76% en la etapa aguda y porcentaje variable en la etapa crónica. La acción de este medicamento está relacionada con la generación de productos de la reducción de oxígeno, contra los cuales el tripanosoma es deficiente en mecanismos de detoxificación, lo que lo hace susceptible al estrés oxidativo. Los efectos secundarios se presentan en 30% de los casos, especialmente en adultos. Puede producir anorexia, pérdida de peso, manifestaciones gastrointestinales (como náuseas, vómito, dolor abdominal, diarrea) dermatitis y compromiso del sistema nervioso central con insomnio, alucinaciones, parestesias y psicosis (Werner *et al.*, 2008). El Benznidazol también es un fármaco tripanocida. Su administración en adultos es a una dosis de 5 mg/kg/día en dos dosis durante 60 días. En niños con un peso menor de 40 kg se utilizan 5-10 mg/kg/día, fraccionado en dos dosis durante 30 días. En lactantes se utilizan dosis de 10 mg/kg/día, fraccionado cada 12 horas. Actúa uniéndose en forma covalente a los intermediarios de la nitrorreducción con los componentes del parásito, ADN, lípidos y proteínas. Martínez (2015) menciona que Benznidazol se ha observado que puede actuar a través de los siguientes mecanismos:

1. Acción tripanocida a través de la formación de enlaces covalentes de intermediarios de nitroreducción con macromoléculas de *T. cruzi* (ADN y CYP450).
2. Aumento de la fagocitosis y lisis del parásito a través de mecanismos dependientes de TNF- γ .
3. Inhibición del crecimiento del agente causal por bloqueo de NADH-fumarato reductasa.
4. Inhibición de la síntesis de proteínas y de ARN en *T. cruzi*.

Es eficaz en el tratamiento de la etapa aguda, en la etapa crónica asintomática y en la crónica sintomática como se ha demostrado en estudios realizados en niños en Brasil y Argentina (Werner *et al.*, 2008).

Los efectos adversos se dividen en tres tipos:

- Dermatológicos: erupción cutánea que aparece entre los 7-10 días de tratamiento, edema generalizado, acompañado de fiebre, adenopatías, mialgia y artralgia.
- Hematológicos: depresión de la médula ósea con trombocitopenia, púrpura y agranulocitosis, que es la manifestación más grave.
- Compromiso neurológico: polineuropatía, parestesia y polineuritis periférica.

La utilización de Nifurtimox y Benznidazol está contraindicado en mujeres embarazadas y en pacientes con insuficiencia hepática y renal.

La disponibilidad de los dos antiparasitarios ha sido muy limitada en Latinoamérica debido a su escasa comercialización (Werner *et al.*, 2008).

Tratamiento experimental (AnfotericinaB)

La Anfotericina B (AmB) es un macrólidopoliénico que se descubrió al estudiar una cepa bacteriana de *Streptomyces nodosus* de la cual proviene.

La molécula hidrofóbica de AmB se une a la molécula de ergosterol de la pared celular fúngica, y juntas producen agregados que forman poros transmembranas; esto causa la despolarización de la membrana plasmática con posterior incremento de la permeabilidad a protones y cationes monovalentes permitiendo el paso de moléculas intracelulares al medio externo ocasionando un desbalance osmótico y finalmente la muerte celular (Botero *et al.*, 2014).

Luego de una infusión intravenosa de AmB liposomal, el medicamento es liberado de su transportador, se distribuye predominantemente con lipoproteínas y es tomado preferentemente por células del sistema fagocítico mononuclear (Chattopadhyay y Jafurulla, 2011). Actúa de manera similar a la nistatina pero la AmB es menos tóxica y de un espectro más amplio afectando hongos como: *Candida*, *Coccidioides*, *Cryptococcus*, *Blastomyces*, *Histoplasma*, *Aspergillus* (Huanca y Surco, 2012) y al protozoario *Leishmania* (Carrillo y Vélez, 2013).

Los efectos secundarios son: dolor en el sitio de aplicación, flebitis, tromboflebitis, mialgias, artralgias, fiebre, escalofríos, náuseas y vómito; la dosis inicia con 1mg en 20-50 mL de solución glucosada al 5%, luego se aumenta progresivamente de acuerdo a la tolerancia del paciente, máximo hasta 50 mg por día (Huanca y Surco, 2012).

La AmB liposomal tiene una tasa de curación de 97% para leishmaniasis visceral sin resistencia reportada; sin embargo, su uso está limitado por la nefrotoxicidad que resulta en falla renal (Balasegaram *et al.*, 2012).

Para tratar la leishmaniosis en perros, Lamothe recomienda aplicar de 0.5-0.8 mg/kg de AmB diluida en suero glucosado (10-20 mL) por vía intravenosa lenta (5-10 min) cada tres días hasta alcanzar una dosis total de 8-10 mg/kg totales. También propone que se puede disminuir la nefrotoxicidad sometiendo la solución a 75°C antes de su aplicación (Miró, 2007).

Por otro lado, González (2017) empleó tres dosis de 4 ó 5 mg/kg cada 15 días de AmB poliagregada. Con ambas dosis consiguió la reducción de los síntomas clínicos (en torno al 40%) al final del tratamiento, siendo las lesiones cutáneas las que mejoraron en mayor medida en la mayoría de los perros objeto de estudio; además, consiguió una reducción de los títulos de anticuerpos. González concluye que la AmB poliagregada es una formulación sencilla de preparar, costo-efectiva, fácilmente escalable a nivel industrial y que es capaz de mejorar los síntomas de la leishmaniosis canina pudiendo ser de gran aplicación en el ámbito veterinario.

En este mismo trabajo utilizan AmB convencional la cual recomienda no superar una dosis de 15mg/kg; sin embargo, González empleó una dosis acumulativa de 20 mg/kg y los perros no presentaron ningún efecto adverso tras el tratamiento.

El uso de la AmB contra la enfermedad de Chagas también ha sido de interés para algunos investigadores, así Cencig y colaboradores (2011) trabajaron con ratones BALB/cJ infectados con 1000 tripomastigotes sanguíneos de la cepa Tulahuén de *T. cruzi* (genotipo TcVI) y los trataron con seis infusiones de AmB liposomal 25 mg/kg de nombre comercial AmBisome (Gilead, París, Francia). El tratamiento fue administrado cada tercer día a partir del primer día post infección (dpi), durante la fase aguda (10 dpi) y en fase crónica (45 dpi). Observaron que las dosis administradas de AmBisome un día después de la inoculación del parásito tuvo un mejor efecto en la reducción de la carga parasitaria en el bazo y el hígado, mientras que la repetición del tratamiento en la fase crónica mejoró la reducción de la carga del parásito en el corazón y el hígado.

Se ha demostrado que la AmB tiene actividad *in vitro* contra los amastigotes, tripomastigotes y epimastigotes de *T. cruzi*. En un estudio realizado por Yardley y Croft (1999) se emplearon cuatro formulaciones de AmB liposomales (Fungizonet, AmBisome, Amphocily y Abelcett) y se compararon *in vitro* e *in vivo* contra *T. cruzi*. En el ensayo *in vitro* Fungizone y Amphocil fueron altamente activos contra amastigotes de la cepa Y de *T. cruzi* en macrófagos (con valores de dosis efectiva media (ED₅₀) de 0.027–0.028 µg/mL); fueron siete veces y 42 veces más activos que AmBisome y Abelcet, respectivamente. *In vitro* las actividades de todas las formulaciones contra amastigotes de *T. cruzi* en células Vero fueron similares, con valores de ED₅₀ en el rango de 2.0–4.2 µg/mL. Las infecciones agudas con la cepa Y de *T. cruzi* en ratones BALB/c fueron

suprimidas en todos los animales por una sola dosis de 25 mg/kg de la formulación AmBisome. A la misma dosis, las formulaciones Amphocil y Abelcet aumentaron la tasa de supervivencia.

Planteamiento del problema

Debido a la toxicidad y a los efectos colaterales del Benznidazol y Nifurtimox, además de la resistencia de algunas cepas de parásitos a estos medicamentos, surge la necesidad de la búsqueda de nuevos fármacos que presenten mayor eficacia, que sean mejor tolerados por los pacientes, que tengan un costo accesible y que sean de fácil adquisición. Sin embargo, el desarrollo de nuevos compuestos terapéuticos contra la enfermedad de Chagas por parte de la industria farmacéutica no es de interés; por estas razones, en este estudio se propuso emplear Anfotericina B como tratamiento en fase aguda de la enfermedad de Chagas en un modelo canino infectado experimentalmente. Esta estrategia es conocida con el nombre de reposicionamiento de fármacos, que es el uso de medicamentos “viejos” en áreas terapéuticas novedosas.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto del tratamiento con AmB en la función cardíaca mediante electrocardiografía en perros con infección experimental aguda con *Trypanosoma cruzi*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Verificar que se haya establecido la infección en los perros inoculados con 2×10^6 tripomastigotes sanguíneos de la cepa H8 de *T. cruzi* mediante diagnóstico parasitológico.
2. Aplicar el tratamiento con AmB a perros infectados experimentalmente con *T. cruzi*.
3. Evaluar el efecto del tratamiento con AmB a través del estudio electrocardiográfico a los tres meses postinfección, comparándolo con el registro basal realizado previo a la infección.

METODOLOGÍA

Animales de experimentación

Se emplearon 16 perros de raza mexicana Náhuatl (Viniestra *et al.*, 2002), de ambos sexos, con un peso de 19 a 25 kg y entre uno y ocho años de edad; dicha raza está verificada, certificada y validada como modelo biológico por la Asociación Mexicana de la Ciencia de los Animales de Laboratorio, A. C. desde el año 2015. Los perros fueron alojados en el Departamento de Bioterio y Cirugía Experimental del Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez” (INCICH) y se manejaron de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana 0062 (NOM-0062-ZOO-1999): Especificaciones Técnicas para la Producción, Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio. El consumo de agua y alimento fue *ad libitum*. El protocolo fue revisado y aprobado por el Comité interno para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio (CICUAL) del INCICH.

Antes de formar los grupos experimentales todos los animales fueron evaluados clínicamente mediante exámenes físicos y la realización de un ECG basal.

Los 16 perros se distribuyeron aleatoriamente y se formaron seis grupos experimentales:

1. Grupo Control (n = 2), perros sanos que no fueron infectados ni tratados.
2. Grupo Benznidazol (n= 3), perros infectados y tratados con Benznidazol
3. Grupo Anfotericina B (n = 5), fueron infectados y tratados con AmB de manera intravenosa.
4. Grupo Crónico (n = 2), perros infectados que cursaban la etapa crónica de la enfermedad de Chagas de los cuales uno fue tratado con Benznidazol y otro no tuvo tratamiento.
5. Grupo Sano/AmB (n = 2), perros sanos no infectados y tratados con AmB.
6. Grupo S/Tx (n = 2), estos perros fueron infectados pero no recibieron ningún tratamiento.

La infección se realizó previamente a 12 perros mediante inoculación intraperitoneal con 2×10^6 de tripomastigotes sanguíneos de la cepa H8 (MHOM/MX/1994/H8) de *T. cruzi* a cada perro. Los parásitos fueron obtenidos a partir de ratones BALB/c en etapa aguda de la infección. Para verificar el establecimiento de la infección se realizó el diagnóstico parasitológico directo en fase aguda.

Determinación del establecimiento de la infección (microhematocrito)

Se colectaron de 0.5mL a 2mL de sangre venosa en un microtubo con anticoagulante (EDTA), se tomó una pequeña muestra en un tubo capilar el cual se llenó hasta $\frac{3}{4}$ partes del mismo, se selló en su borde inferior, se protegió envolviéndolo con algodón y se metió en un tubo para microcentrífuga; se centrifugó a 1500 rpm por 5 min. El capilar centrifugado se colocó sobre un portaobjetos y se observó el plasma con un microscopio de luz (marca Leitz Wetzlar). Este procedimiento se realizó una vez a la semana a partir de los 10 días post- infección (dpi) durante 5 semanas.

Tratamiento experimental

Los tratamientos farmacológicos se administraron a los 25 dpi de la siguiente manera: grupo 2. Benznidazol (n=3) fue tratado con dicho fármaco (Lafepe®) por vía oral con una dosis de 10mg/kg/perro/24 h durante 10 días; el grupo 3. Anfotericina B (n=5) y 5. Sano/AmB (n=2) recibieron el medicamento por vía intravenosa de la presentación comercial *Amfotericina B* (Pisa®), la cual es la formulación convencional de desoxicolato. Se administró en cuatro ocasiones a razón de 0.3 a 0.5 mg/kg cada 72 h mediante goteo lento en un periodo de 4 h en una

solución de dextrosa al 5%. La AmB (Pisa®) se disolvió previamente en agua inyectable y se protegió de la luz.

Medicamentos administrados antes y después del tratamiento experimental

Con la finalidad de tener un mejor manejo del paciente y prevenir los efectos secundarios de la AmB, a los perros que fueron tratados con este fármaco se les administró previamente clorhidrato de acepromacina (Calmivet ®) a una dosis de 1.25 mg/kg vía intramuscular, la cual actuó como un tranquilizante; se les suministró un antihistamínico el cual fue difenhidramina a dosis de 2mg/kg vía oral con la finalidad de evitar temblores y ansiedad debido al uso de acepromacina; para evitar el vómito se les dio ondansetrón a una dosis de 0.15 mg/kg vía intramuscular; posteriormente, se canalizó al perro y se administró una infusión de 250 mL de solución salina fisiológica vía intravenosa para prehidratar al animal y evitar la pérdida de electrolitos séricos debido a la administración de la solución de dextrosa al 5%; inmediatamente después de terminar el tratamiento con AmB se aplicaron 2 mg/kg de furosemida vía intramuscular para favorecer la diuresis y prevenir el daño renal.

Realización de electrocardiogramas (ECG) a los tres meses postinfección

Se rasuraron las zonas donde fueron colocados los parches, brazaletes o caimanes: área interna de las cuatro extremidades, cercano al codo y a la rodilla, área para esternal, costado izquierdo a la altura de la cuarta a la séptima costilla y zona del lomo a la altura de la séptima vértebra torácica. Se utilizó un electrocardiógrafo Schiller ® AT- 10, el cual se programó a una velocidad de 50 mm/s a 10 mV.

Se colocó al paciente en decúbito lateral derecho sobre una superficie no conductora para eliminar interferencia eléctrica. Se empleó la técnica de sujeción física (sin el empleo de ningún sedante) para colocar a los animales en la posición correcta para el desarrollo del estudio.

Se aplicó abundante gel conductor en los parches, brazaletes y caimanes; en la tabla 4 se describe el lugar donde se colocaron los electrodos.

Tabla 4. Posicionamiento anatómico de los ocho electrodos utilizados en perros para la realización de un electrocardiograma.

Electrodo	Descripción del sitio de colocación del electrodo
RA	Cercano al olécranon del miembro torácico derecho
LA	Cercano al olécranon del miembro torácico izquierdo
LL	Ligamento patelar del miembro pélvico izquierdo
RL	Ligamento patelar del miembro pélvico derecho
CV5RL(V1)	Quinto espacio intercostal paraesternal derecho
CV6LL(V2)	Sexto espacio intercostal paraesternal izquierdo
CV6LU(V4)	Sexto espacio intercostal costochondral izquierdo
V10(V6)	Proceso espinoso de la séptima vértebra torácica

Se registraron las derivaciones periféricas bipolares (I, II, III), unipolares aumentadas estándares (aVR, a VL y aVF) y precordiales [CV₅RL (V₁), CV₆LL (V₂), CV₆LU (V₄) y V₁₀ (V₆)] (Tilley, 1979).

Para realizar la lectura de los ECG (Cavilla, 2016) se siguieron estos pasos:

- 1) **Cálculo de la frecuencia cardiaca (FC).** Es el número de latidos por minuto o complejos QRS en el ECG en 1 min (60 s). A continuación se explican dos maneras sencillas de determinar la FC. Se debe conocer la velocidad a la que fue efectuado el registro (25

mm/s o 50 mm/s) porque cada cuadrado de 1mm, en el eje horizontal, representará una duración en segundos específica (ver figura 2).

- a) Si el ritmo es regular, el método más simple de calcular la FC (Cavilla, 2016) es contar el número de cuadraditos de 1 mm entre dos latidos cardiacos sucesivos (intervalo R-R en mm). Cuando la velocidad del papel es de 50 mm/s, 1 min (60 s) equivalen a 3000 mm (o cuadraditos pequeños del papel). Cuando la velocidad del papel es de 25 mm/s, 1 min equivalen a 1500 mm, así tenemos que:

$$FC = 3000 \text{ o } 1500 / \text{ distancia en mm entre R-R.}$$

- b) Si el ritmo es irregular habrá dos maneras de calcular la FC dependiendo de la velocidad del papel. Si partimos de que la velocidad del papel es de 25 mm/s, sabemos que 5 cuadrados grandes equivalen a 1 s y por lo tanto 15 cuadrados grandes equivalen a 3 s. Contamos los complejos QRS presentes en este lapso (3 s) y multiplicamos dicho número por 20 como constante. Así obtendremos los complejos QRS en 1 min, es decir, los latidos por minuto (Fig. 4).

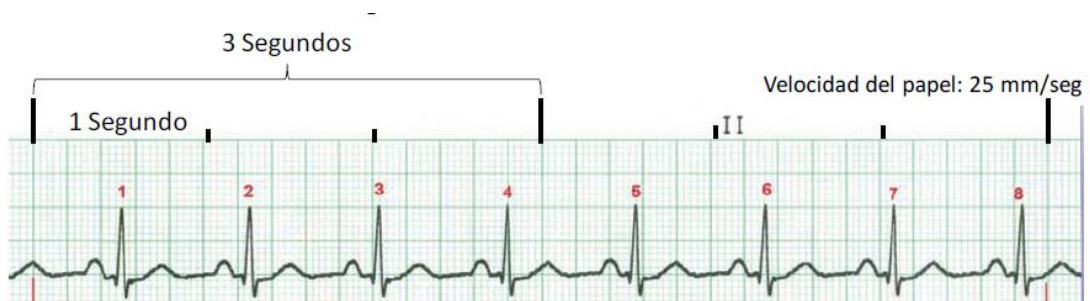


Figura 4. ECG registrado a una velocidad de papel de 25 mm/s. Se aplica la siguiente ecuación: (# de complejos en 3 s) x 20 = lpm, en este ejemplo, sustituyendo los valores de la figura tenemos que (4) x 20 = 180 lpm.

Si el registro fue tomado a 50 mm/s, 15 cuadrados equivaldrán a 1.5 s y 30 cuadrados a 3 s. Por lo tanto, contaremos el número de complejos QRS en 3 s y multiplicaremos dicho número por 20 como constante (Fig. 5).



Figura 5. ECG registrado a una velocidad de papel de 50 mm/s. Se aplica la siguiente ecuación: (# de complejos en 3 s) x 20 = lpm, en este ejemplo, sustituyendo los valores de la figura tenemos que (8) x 20 = 160 lpm.

2) **Determinación del ritmo cardiaco.** Conociendo la fisiología eléctrica cardiaca sabemos que el impulso eléctrico normal se origina en el nodo sinoauricular y que la secuencia de ondas normales en el electrocardiograma será: P-QRS-T. Así, cada onda P debe estar sucedida por un complejo QRS en una proporción 1:1. Si esta condición se cumple decimos que el Ritmo es Sinusal pero si el trazado no cumple con las condiciones anteriores se determina que es arrítmico.

3) De los componentes del ECG (Fig. 3) **Medir la duración (s) y amplitud (mV) de ondas y segmentos** (Tilley y Burnick, 1999).

- a) Onda P
- b) Intervalo P-R
- c) Complejo QRS
- d) Segmento S-T
- e) Onda T
- f) Intervalo Q-T

4) **Determinar el eje eléctrico.** Este nos indica la dirección principal del estímulo eléctrico a su paso por los ventrículos. Para saber el valor del eje eléctrico del corazón se realiza la suma algebraica de las ondas Q y R de las derivadas I y III:

Ejemplo:
 Derivada I
 $Q = - 0.3$ y $R = + 0.3$
 Sumatoria de las ondas: $+ 0$

Derivada III
 $Q = - 0.3$ y $R = + 0.8$
 Sumatoria de las ondas: $+ 0.5$

Como ambas sumatorias son positivas, entonces se utiliza la tabla tomada de Tilley (1992) positiva-positiva

Tablas de Tilley - Derivación I Positiva, Derivación III Positiva

Derivación III Positiva	0.0	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0	4.5	5.0	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	9.0	9.5	10.0	11.0	12.0	13.0	14.0	15.0	20.0
0.0	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
0.5	60	49	44	41	39	38	37	36	35	35	34	33	33	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32	31
1.0	90	71	60	53	49	46	44	42	41	40	39	38	37	36	35	35	34	34	34	34	34	34	34	34	34	34	33
1.5	90	70	67	60	55	52	49	47	45	44	43	41	39	38	37	36	36	36	36	36	36	36	36	36	36	36	35
2.0	90	70	71	65	60	56	53	51	49	47	46	44	42	41	40	39	38	38	38	38	38	38	38	38	38	38	37
2.5	90	81	74	69	64	60	57	54	52	51	49	47	45	43	42	41	40	39	39	39	39	39	39	39	39	39	38
3.0	90	82	76	71	67	63	60	57	55	53	52	49	47	45	44	43	42	41	40	39	39	39	39	39	39	39	38
3.5	90	83	78	73	69	66	63	60	58	56	54	51	49	47	46	44	43	42	41	40	39	39	39	39	39	39	38
4.0	90	84	79	75	71	68	65	62	60	58	56	53	51	49	47	46	45	44	43	42	41	40	39	39	39	39	38
4.5	90	85	80	76	73	69	67	64	62	60	58	55	53	51	49	48	47	45	44	43	42	41	40	39	39	39	38
5.0	90	85	81	77	74	71	68	66	64	62	60	57	55	52	51	49	48	47	45	44	43	42	41	40	39	39	38
6.0	90	86	82	79	76	73	71	69	67	65	63	60	57	55	53	52	50	49	48	47	46	45	44	43	42	41	40
7.0	90	87	83	81	79	76	74	72	71	69	67	65	63	60	58	56	54	53	51	50	49	48	47	46	45	44	43
8.0	90	87	84	82	79	77	75	73	72	69	68	65	62	60	58	56	55	53	52	51	50	49	48	47	46	45	44
9.0	90	87	85	82	80	78	76	74	73	71	69	67	64	62	60	58	57	55	54	53	52	49	48	47	46	45	44
10.0	90	88	85	83	81	79	77	76	74	72	71	68	66	64	62	60	58	57	56	54	53	49	48	47	46	45	44
11.0	90	88	86	84	82	80	78	77	75	73	72	70	67	65	63	62	60	59	57	56	54	53	49	48	47	46	45
12.0	90	88	86	84	82	81	79	78	76	75	73	71	69	67	65	63	61	60	59	57	56	54	53	49	48	47	46
13.0	90	88	86	84	83	81	80	78	77	76	74	72	70	68	66	64	63	61	60	59	58	56	54	53	49	48	47
14.0	90	88	87	85	83	82	80	79	78	77	75	73	71	69	67	66	64	63	61	60	59	58	56	54	53	49	48
15.0	90	88	87	85	84	82	81	80	79	77	76	74	72	70	68	67	65	64	62	61	60	59	58	56	54	53	49
20.0	90	89	88	87	85	84	83	82	81	80	79	77	76	74	72	71	70	68	67	65	64	62	61	60	59	58	55

Por lo tanto, el resultado de este ejemplo es $+ 90^\circ$, eje normal.

Los valores que resulten de dicha suma algebraica tanto de la Derivada I como de la Derivada III deben ser buscados en una de las cuatro tablas de Tilley (positiva-positiva, positiva- negativa, negativa-positiva o negativa- negativa; ver anexo 1) según corresponda; el número que se halle en la intersección de ambas Derivadas corresponde a los grados del eje eléctrico (Fig. 6).

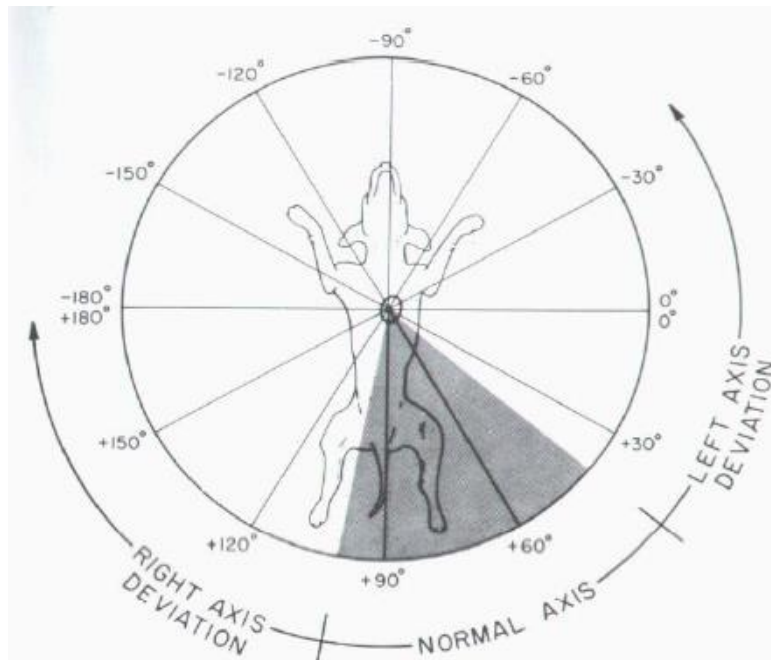


Figura6. Eje eléctrico. La zona sombreada muestra el valor normal del eje eléctrico medio (EEM)(40° a 100°) en el perro. Aquellos valores menores a 40° se consideran un desvío del EEM hacia la izquierda y aquellos valores mayores a 100° indican un desvío del EEM hacia la derecha.

Cada valor calculado fue plasmado en una hoja de registro electrocardiográfico (ver Anexo 2) en la que se sintetizó la información del ECG.

Se realizó el análisis de cada una de esas hojas de registro en las que se recopiló la información mínima necesaria para emitir una interpretación del estudio mediante la comparación de los valores encontrados con los valores de referencia (ver Anexo 3) (Mucha y Belerenian, 2008).

Así, cada valor que salió del rango de referencia fue considerado como una alteración. El conjunto de alteraciones electrocardiográficas fueron interpretadas y se asociaron con una patología (Tilley, 1979; Mucha y Belerenian, 2008).

RESULTADOS

Con el fin de comprobar que se estableció la infección en el modelo experimental se realizó la búsqueda de parásitos en sangre mediante la técnica de microhematocrito. Durante los 10 dpi. se tomaron muestras de sangre una vez por semana durante 5 semanas, y a partir del día 11 y hasta el día 33 se encontraron parásitos en circulación (Tabla 5). Este resultado indica que la infección fue exitosa; el inicio de la parasitemia fue entre 11 y 19 dpi. Al comparar el grupo 3. Anfotericina B con el grupo 2. Benznidazol se observa que en el grupo con el tratamiento experimental la parasitemia persistió por más tiempo ya que se encontraron parásitos en sangre hasta el día 33, mientras que en el grupo tratado con Benznidazol fue hasta el día 21.

Tabla 5. Parasitemia de los grupos experimentales.

Grupo	Nombre	Días postinfección (dpi)															
		11	12	13	14	15	17	19	21	22	23	24	26	28	29	30	31
6. S/Tx	Kochi		+					+					-				
	Teotl		+					+					-				
3. Anfotericina B	Akatzin		+					+					-				
	Tika	+										+					
	Izel	+					+					+					-
	Tepili		+		+				+					-	-		
	Xipili		+					+					-			-	
2. Benznidazol	Neki			+		+				-		-			-		
	Tlali		-		-			+					-	-			
	Chia		+		+				+					-			

Con respecto a los tratamientos experimentales con AmB, estos dieron inicio a los 25 dpi. Los perros fueron canalizados y el goteo fue de 33 gotas por minuto en promedio. Durante la infusión del medicamento se estuvieron midiendo los parámetros clínicos de FC, temperatura y frecuencia respiratoria (ver Anexo 4).

Se observó que algunos perros toleraron muy bien el tratamiento mientras que otros presentaron efectos secundarios: uno de ellos presentó bradicardia en la última infusión (20%); otro diarrea profusa durante el cuarto tratamiento (20%) y un tercero (20%) náuseas post tercer tratamiento con ligero sangrado de la mucosa rectal. En todos los casos los animales se recuperaron.

En general el tratamiento no alteró ningún parámetro clínico; el caso de bradicardia se debió a que la infusión se administró a una velocidad mayor que la recomendada por lo que en las subsecuentes infusiones se prestó especial atención a esta variable.

En cuanto al tratamiento con Benznidazol se observó que dos de los perros Náhuatl (67%) no tuvieron efectos secundarios después del tratamiento; sin embargo, un perro (33%) presentó vómito al cuarto día del tratamiento, recuperándose y sin volver a tener ningún signo de intolerancia.

El análisis del peso corporal de los animales experimentales mostró que, tanto los infectados con y sin tratamiento como los perros sanos tratados con AmB, tuvieron una merma en la condición corporal, siendo más notoria en los perros infectados y tratados.

Los estudios electrocardiográficos realizados a los 16 perros Náhuatl de experimentación antes de la infección mostraron un ECG normal, a excepción de un perro (1/2) del grupo Sano/AmB (50%), el cual presentó un bloqueo de rama o agrandamiento de ventrículo derecho, y al realizarse el ECG después de tres meses la alteración se siguió manifestando; se dedujo que esta alteración es de origen congénito.

En el resto de los animales los registros de ECGs realizados tres meses posteriores a la infección, correspondientes a la etapa aguda de la enfermedad de Chagas, tampoco presentaron alteraciones en la conducción eléctrica del corazón. Por lo anterior, y dado que tanto en los perros del grupo S/Tx (infectados que no recibieron tratamiento alguno) así como en el grupo Anfotericina B (los cuales fueron infectados y tratados con AmB) tampoco se presentaron anormalidades en los registros electrocardiográficos, se puede afirmar que a los tres meses postinfección no es posible evaluar un efecto del tratamiento sobre la conducción eléctrica del corazón en los perros con enfermedad de Chagas en etapa aguda de la infección.

Tabla 6. Interpretación de los registros electrocardiográficos de perros Náhuatl

Grupos	ECG basal			ECG a los 3 m	
	Perros/n (%) con anormalidades	Hallazgos anormales	Condiciones patológicas asociadas con los hallazgos del ECG	Perros/n (%) con anormalidades	Hallazgos anormales
6. S/ Tx	1/2 (50%)	No	Sano	1/2 (50%)	No
	1/2 (50%)	La altura de T es mayor a $\frac{1}{4}$ de R (0.3 mV vs. 0.4 mV)	Bloqueos de rama o agrandamiento de ventrículo derecho	1/2 (50%)	La altura mayor a (0.3 mV mV)
3. Anfotericina B	5/5 (100%)	No	Sano	5/5 (100%)	No
2. Benznidazol	3/3 (100%)	No	Sano	3/3 (100%)	No
4. Crónicos	2/2 (100%)	No	Sano	2/2 (100%)	No
1. Control	2/2(100%)	No	Sano	2/2 (100%)	No

Discusión

En la actualidad el problema más importante en la enfermedad de Chagas es la falta de terapias efectivas para curar la infección por *T. cruzi* o para prevenir la progresión de la enfermedad. Debido a que los tratamientos convencionales con Benznidazol o Nifurtimox son altamente tóxicos, implican un periodo prolongado de uso y han demostrado una efectividad tripanocida variable, existe la necesidad de explorar nuevos fármacos esperando que sean más eficientes; es por ello que en este trabajo se estudió el efecto de la AmB sobre la conducción eléctrica cardíaca en un modelo canino de enfermedad de Chagas experimental en etapa aguda.

En este estudio se demostró el establecimiento de la infección experimental con *T. cruzi* mediante la técnica de microhematocrito. A partir del día 11 postinfección se detectaron parásitos en sangre; esto coincide con el estudio realizado por Barbabosa-Pliego y colaboradores (2009), quienes emplearon perros mestizos infectados experimentalmente con la cepa Sylvio-X10 (3.5×10^3 tripomastigotes sanguíneos/kg de peso corporal) y reportaron que a partir de la segunda semana postinfección se produjeron anticuerpos anti-*T. cruzi*; debido a estos resultados podemos deducir que la parasitemia ocurrió en el transcurso de dos a tres semanas después de la inoculación, lo cual coincide con la enfermedad clínica aguda (Ramirez, 2006). Guedes y colaboradores (2007) trabajaron con perros de la raza Beagle infectados con *T. cruzi* cepa Y o Berenice-78 (inoculados con 2×10^3 tripomastigotes sanguíneos /kg de peso corporal), reportan que la parasitemia fue a partir de 12 dpi con la cepa Y y con la cepa Berenice-78 a partir de 17 dpi.

Por otra parte, Aparicio-Burgos y colaboradores (2011) mencionan que en los perros mestizos infectados con *T. cruzi* de la cepa Sylvio-X10 (3.5×10^3 tripomastigotes sanguíneos/kg de peso corporal) la parasitemia persistió más allá del día 37 postinfección. En nuestro estudio la última detección de parásitos fue a los 33 dpi, lo cual no difiere mucho delo encontrado por Aparicio-Burgos. Podemos denotar que la parasitemia en los grupos Benznidazol y Anfotericina B tuvo una duración mayor comparada con el grupo S/Tx. Las diferencias se pueden explicar debido a que se emplearon inóculos y cepas de *T. cruzi* distintas en cada estudio; es bien sabido que las cepas difieren en cuanto a virulencia, infectividad, patogenicidad y variabilidad genética, además las variaciones en las condiciones de inoculación y los factores propios del huésped están implicados en el curso de la enfermedad (Bahia *et al.*, 2002).

El análisis del peso corporal de los animales experimentales mostró que, tanto los infectados con y sin tratamiento como los perros sanos tratados con AmB, tuvieron una merma en la condición corporal, siendo más notoria en los perros infectados y tratados; estos resultados son congruentes con lo reportado en perros con enfermedad de Chagas ya que se ha reportado anorexia y diarrea en la etapa aguda de la infección (TCFSPH e IICAB, 2009).

La administración previa de una carga de solución salina diaria antes de recibir la dosis de AmB convencional ha demostrado ser en forma independiente un factor protector de daño renal en seres humanos (Fica, 2004; Allevato *et al.*, 2007). También en la medicina veterinaria se recomienda la prehidratación del paciente antes de la aplicación de la AmB (Khan, 2007). Siguiendo estas recomendaciones, en el presente estudio a cada uno de los perros se le administraron 250 mL de solución salina vía intravenosa para evitar la nefrotoxicidad.

Los estudios electrocardiográficos de los 16 perros Náhuatl, antes de la infección y tres meses después de la misma, muestran que no presentaron alteraciones en la conducción eléctrica del corazón; esto está de acuerdo con lo reportado por Machado *et al.* (2001) quienes no detectaron

alteraciones en el electrocardiograma ni cambios patológicos en perros mestizos infectados con las cepas de *T. cruzi* 147y SC-1 (1×10^3 tripomastigotes sanguíneos/kg de peso corporal) estudiados hasta 15 meses postinfección. Esto contrasta con el estudio realizado por Aparicio-Burgos y colaboradores (2011), quienes evaluaron la efectividad de una vacuna experimental de DNA del parásito, en el cual los perros mestizos a los 30 días de haber sido infectados con la cepa Sylvio-X10 (3.5×10^3 tripomastigotes sanguíneos/kg de peso corporal) no presentaron anomalías cardíacas; sin embargo, a los 60 dpi, el 67% de los perros no vacunados presentaron alteraciones electrocardiográficas tales como miocarditis, pericarditis y alto grado de necrosis del cardiomiocito, dos perros vacunados/infectados murieron a los 42 dpi debido a altos problemas de conducción eléctrica y arritmia por lo cual determinaron que la cepa es altamente patógena en perros.

Rodríguez-Morales y colaboradores (2012) utilizaron perros Beagle infectados con la cepa Ninoa en los que se reportaron bloqueo de rama derecha o izquierda o agrandamiento ventricular, así como un bloqueo auriculo ventricular. Además, en el trabajo realizado por Andrade y colaboradores (1987) en perros mestizos infectados con diferentes inóculos (en un rango de 5×10^4 hasta 1×10^6) de tripomastigotes sanguíneos de las cepas 12SF o Colombia, la mayoría de los animales presentaron alteraciones como bradicardia, inversión de onda T, bajo voltaje QRS, irregularidades del segmento ST o bloqueo de rama derecha en la etapa aguda de la infección (30 dpi). Barbabosa-Pliego y colaboradores (2009) infectaron perros mestizos con 3.5×10^3 tripomastigotes sanguíneos/kg de peso corporal de dos cepas diferentes de *T. cruzi*; con la cepa Zumpahuacan encontraron anomalías discretas en el ECG a las cuatro semanas postinfección; estas incluyeron reducción en el segmento S-T por debajo de 0.2 mV y una contracción ventricular prematura, indicativa de isquemia y arritmia, respectivamente, que evolucionó hacia la normalización del ECG a las ocho semanas postinfección. Los perros

infectados con la cepa Sylvio-X10 exhibieron taquicardia sinusal a las cuatro semanas postinfección y murieron posteriormente. Ramírez (2006) menciona que la muerte súbita en la etapa aguda es debida a arritmias cardíacas ocasionadas por las alteraciones del miocardio, ya que se rompen los miocitos cardíacos del huésped al eliminarse los tripomastigotes ocasionando una inflamación adicional al activarse el sistema inmune del huésped contra los tripomastigotes liberados. En los estudios analizados se emplearon diferentes cepas e inóculos de infección, posiblemente por esto es que algunos autores encuentran alteraciones electrocardiográficas en etapa aguda, probablemente se trata de cepas más patógenas.

En el presente estudio no se presentaron hallazgos electrocardiográficos a los tres meses postinfección con la cepa H8; sin embargo, estos animales seguirán siendo monitoreados cada cuatro meses a lo largo de un año y medio para evaluar la evolución de la enfermedad con esta cepa en este modelo animal.

CONCLUSIÓN

En conclusión, durante la etapa aguda de la enfermedad de Chagas experimental no se observa ningún efecto del tratamiento con Anfotericina B sobre la conducción eléctrica del corazón en perros de la raza Náhuatl evaluados por electrocardiografía a los tres meses postinfección y dos meses post tratamiento.

REFERENCIAS

- Acosta, N. y López, E. (2013). Reservorios mamíferos del *Trypanosoma cruzi* en Paraguay. *Memorias del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud*, 11(2): 90-96.
- Amieva, C. (2014). El Chagas en la actualidad de latinoamérica: viejos y nuevos problemas, grandes desafíos. *Revista de Ciencias Sociales*. (62): 1-19.
- Andrade, Z. A., Andrade, S. G. Y Sadigursky, M. (1987). Enhancement of chronic *Trypanosoma cruzi* myocarditis in dogs treated with low doses of cyclophosphamide. *The American Journal of Pathology*, (127): 467-473.
- Aparicio-Burgos J. E., Ochoa-García L., Zepeda-Escobar J.A., Gupta S., Dhiman M., Martínez J. S., Montes de Oca-Jimenez R., Val Arreola M., Barbabosa-Pliego A., Vazquez-Chagoyan J. C. y GargJainN. (2011). Testing the Efficacy of a Multi-Component DNA-Prime/ DNA-Boost Vaccine against *Trypanosoma cruzi* Infection in Dogs. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 5(5): 1-10.
- Allevato, M. A., Negroni R. y Galimberti. R. (2007) Antifúngicos Ayer, Hoy y Mañana, Recuperado de http://www.atdermae.com/pdfs/atd_30_01_02.pdf
- Bahia M. T., Luiz T. W., Vidigal C. M., Veloso V. M., Carneiro C. M., G. L. L. M. Coelho y de Lana M. (2002). Comparación de la infección por *Trypanosoma cruzi* en perros inoculados con sangre o tripomastigotes metacíclicos de cepas Berenice-62 y Berenice-78 por vía intraperitoneal y conjuntival. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 35(4), 339-345.
- Balasegaram, M., Ritmeijer, K., Lima, M. A., Burza, S., Ortiz, G. G. y Milani, B. (2012). Liposomal amphotericin B as a treatment for human leishmaniasis. *Expert opinion on emerging drugs*, 17(4), 493-510.
- Barbabosa-Pliego, A., Díaz-Albiter, H. M., Ochoa-García, L., Aparicio-Burgos, E., López-Heydeck, S. M., Velásquez-Ordoñez, V., Fajardo-Muñoz R. C., Díaz-González, S., Montes De Oca-Jimenez, R., Barbosa-Mireles, M., Guzmán-Bracho, C., Estrada-Franco J. G., Jain Garg, N. and Vázquez-Chagoyán, J. C. (2009). *Trypanosoma cruzi* circulating in the southern region of the State of Mexico (Zumpahuacan) are pathogenic: a dog model. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 81(3), 390-395.
- Blandenier Bosson de Suárez, C. A., y López-Loyo, E. S. (2017). Enfermedad de Chagas canina: Presentación de dos casos en perros de raza Huski siberiano con miocarditis chagásica procedentes de Paracotos, Estado Miranda, Venezuela. *Gaceta Médica de Caracas*, 125(4), 328-336.

- Botero, M. C., Puentes, H. M. y Cortés, A. J. (2014). *Formas lipídicas de anfotericina*. Recuperado de https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182014000500002.
- Carabarin-Lima A, González-Vázquez, M. C., Rodríguez-Morales, O., Pacheco, L. B., Rosales-Encinac, J. L., Reyes-López, P. A. y Arce-Fonseca, M. (2013). Chagas disease (American trypanosomiasis) in Mexico: An up date. *Acta Tropica*, 127: 126-135.
- Carrillo, C. D. C. y Vélez, L. J. D. (2013). *Leishmaniasis cutánea y anfotericina B liposomal*. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/260314836_Leishmaniasis_cutanea_y_anfotericina_B_liposomal_Reporte_de_caso.
- Cavilla, M. V. (2016). *Electrocardiografía II, lectura e interpretación del Electrocardiograma*. Recuperado de <https://es.scribd.com/document/378022800/Electrocardiografia-II-Lectura-e-Interpretacion>.
- Cencig, S., Coltel, N., Truyens, C. y Carlier, Y. (2011). Parasitic Loads in Tissues of Mice Infected with *Trypanosoma cruzi* and Treated with AmBisome. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 5(6): 1-10.
- Cermeño, J. (2013). Infección por *Trypanosoma cruzi* en el estado Bolívar, Venezuela. Revisión y actualización. *Revista Multidisciplinaria del Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente*, 25(2): 129-141.
- Chattopadhyay, A. y Jafurulla, M. (2011). A novel mechanism for an old drug: Amphotericin B in the treatment of visceral leishmaniasis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, (416): 7-12.
- Díaz, M. L., y González, C. I. (2014). Enfermedad de Chagas agudo: transmisión oral de *Trypanosoma cruzi* como una vía de transmisión re-emergente. *Revista de la Universidad Industrial de Santander Salud*, 46(2): 177-188.
- Fica C, A. (2004). Tratamiento de infecciones fúngicas sistémicas. III parte: Anfotericina B, aspectos fármaco económicos y decisiones terapéuticas. *Revista chilena de infectología*, 21(4): 317-326. <https://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182004000400006>
- French, A. (2008). *Introduction to electrocardiography*. Recuperado de <https://www.vin.com/apputil/content/defaultadv1.aspx?pid=11268&catid=32744&id=3866623&ind=24&objtypeid=17&print=1>.
- González Á. I. (2017). Eficiencia y tolerabilidad de una nueva formulación de Anfotericina B en perros naturalmente infectados por leishmaniosis (Tesis doctoral). Departamento de farmacia, Universidad CEU Cardenal Herrera, España.

- 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 Galvão, 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.
- Huanca, C. N. I. y Surco, L. V. J. 2012. Antimicóticos. *Revista de Actualización Clínica Investiga*, (25): 1292-1296.
- Kahn C. M. (2007). *Manual Merck de veterinaria: farmacología*. (6 a ed). (p.1913-2151) España: Oceano.
- Koberle, F. (1961). *Patología y anatomía de la enfermedad de Chagas*. Recuperado de <http://hist.library.paho.org/Spanish/BOL/v51n5p404.pdf>
- Machado, E. M., Fernandes, A. J., Murta, S.M. y Vitor, R.W., Camilo, D. J. Jr., Pinheiro, S. W., Lopes, E. R., Adad, S. J., Romanha, A. J. y Pinto, D. J. C. (2001) . A study of experimental reinfection by *Trypanosoma cruzi* in dogs. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, (65): 958-965.
- Marchena, Y. P. J., García, M. B. C, L. P. de, D., Hervás, L. M. J., y Ruiz, C. M. (2006). Miocardiopatía chagásica: una causa de insuficiencia cardiaca de origen infeccioso. *Anales de Medicina Interna*, 23(4): 179-180.
- Martínez, T. J. G. (2014). Seroprevalencia y Vectores de la enfermedad de Chagas en la región carbonífera de Coahuila, México (Tesis doctoral) Universidad Autónoma de Nuevo León Facultad De Ciencias Biológicas, México.
- Martínez C. S. (2015). Síntesis y perfil toxicológico de nuevos benzotiazoles con potencial actividad tripanocida (Trabajo de Fin de Máster). Universidad Veracruzana, Mexico.
- Miró C. G. (2007). Leishmaniosis canina: situación actual en Europa, diagnóstico y control. Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid, España. *Acta Scientiae Veterinariae*, 35(2): 228.
- Montenegro M. V., Jiménez M., Pinto D. J. C. y Zeledón R. (2002). Enfermedad de Chagas en perros de áreas endémicas de Costa Rica. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97 (4): 491-494.
- Mucha, J. C. y Belerenian, G. (2008). *Manual de cardiología veterinaria conceptos aplicables al día a día: Exámenes complementarios en cardiología veterinaria*. (p.28-50) Argentina: Holliday-Scott.
- Náquira, C., y Cabrera, R. (2009). Breve reseña histórica de la enfermedad de Chagas, a cien años de su descubrimiento y situación actual en el Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 26(4): 494-504.

- Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. (2008). Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Recuperado de <http://www.ibt.unam.mx/computo/pdfs/bioterio.NOM-062.pdf>
- OMS, Organización mundial de la Salud. (2018). La enfermedad de Chagas (tripanosomiasis americana). Recuperado de [http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis))
- Pereira, K. S., Schmidt, F. L., Guaraldo, A. M. A., Franco, R. M. B., Dias, V. L., y Passos L. A. C. (2009). Chagas' disease as a foodborne illness. *Journal of Food Protection*, 72(2): 441–446.
- Pérez, Y. L. M., Gutiérrez, L. A., Rodríguez, B. S. y Gil, S. A. (2017). Chagas disease. A threat unknown for the hearts of Latin America. *Revista Cubana de Medicina*, 56(1): 50-68.
- Ramírez, S. S. 2002. Criterios de selección para animales de laboratorio: una guía práctica para investigadores. *Revista de sanidad militar mexicana*, 56(1): 46-52.
- Ramírez, M. A. J. 2006. Enfermedad de Chagas en el perro: mitos y realidades. *Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Pequeñas Especies, A. C.*, 17(5): 213-216.
- Rodríguez-Morales, O., Pérez-Leyva, M. M., Ballinas-Verdugo, M. A., Carrillo-Sánchez, S. C., Rosales-Encina, J. L., Alexandre-Aguilar, Reyes, P. and Arce-Fonseca, M. (2012). Plasmid DNA immunization with *Trypanosoma cruzi* genes induces cardiac and clinical protection against Chagas disease in the canine model. *Veterinary research*, 43(1), 79.
- Ruiz, A. M. E. 2015. Seroprevalencia y factores de riesgo asociados a *Trypanosoma cruzi* en perros de comunidades rurales del municipio de la antigua, Veracruz, México. (Trabajo de Fin de Máster) Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Veracruzana, Mexico.
- Salazar, S. P. M., Torres, B. M. I, Cabrera, B. M., Alba, A. M. C., Castillo, S. D. R., Zenteno, G. E. A., Rojo, M. J., Fernández, S. N. A. y Perera, S. M. G. (2016). Enfermedad de Chagas en México. *Revista de la Facultad de Medicina UNAM.*, 59(3): 6-16.
- Sánchez, E., Vélez, M. C., Restrepo, M., Marín, J. S. y Gallego, D. 2016. Tripanosomiasis americana, una mirada desde el Tratamiento. *Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal*, 77(1): 39-44.
- Sisson, S. y Grossman, J. D. 2003. Anatomía de los animales domésticos (p.118). Barcelona: Masson.
- Tilley. P. L. (1992). Essentials of Canine and Feline Electrocardiography: Interpretation and Treatment. 3^a edición. Philadelphia, U.S.: Lea & Febiger.

- Tilley, P. L. y Burnick, L. N. 1999. Electrocardiography for the small animal practitioner. Carroll C. C. (Ed). United States of America: Teton New Media.
- Tilley, P. L. 1979. Essentials of canine and feline electrocardiography. London: Mosby.
- Turriago, G. B. C., Vallejo, G. A. Y, Guhl, F. (2008). Seroprevalencia de *Trypanosomacruzi* en perros de dos áreas endémicas de Colombia. *Revista de la Facultad de Medicina*, 16(1): 11-18.
- TCFSPH e IICAB (The Center for Food Security y Public Health y Institute for International Cooperation in Animal Biologics). Enfermedad de Chagas. (2009). Recuperado de http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/trypanosomiasis_american-es.pdf.
- Viniegra, R. F., Gracia, H.W., Olmos, J. K., Coronel, P. A. y Carmona, M. M. A. (2002). Retrospectiva de una nueva raza canina *náhuatl* de bioterio para cirugía experimental. *Revista Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Pequeñas Especies, A. C.*, 13(2): 65-85.
- Werner, A.B. y Zulantay, A. I. (2011). Estado actual en el tratamiento de la enfermedad de Chagas. *Revista médica de Chile*, 139(2): 247-257.
- Werner, A. B., Heitmann, G. I., Jercic, L. M. I., Jofré M. L., Muñoz C. del V. P., Jorge Sapunar P., Torres, H. M. y Zulantay A. I. (2008). Parte VI. Tratamiento antiparasitario de la enfermedad de Chagas. Comité de Parasitología, Departamento de Enfermedades Emergentes y Re-emergentes, Ministerio de Salud de Chile. *Revista médica de Chile*, 25(5): 384-389.
- Yardley, V. y Croft, L. S. 1999. In Vitro and In Vivo activity of Amphotericin B-Lipid formulations against experimental *Trypanosoma cruzi* infections. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 61(2):193–197.

Anexos

Anexo 2: Hoja de registro electrocardiográfico en perros.



INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA

IGNACIO CHÁVEZ

DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR



LABORATORIO DE INMUNOLOGÍA MOLECULAR Y PROTEÓMICA

HOJA DE REGISTRO ELECTROCARDIOGRÁFICO

SECRETARÍA
DE SALUD



Nombre del paciente: _____ Sexo: _____ Edad: _____ Fecha: _____

Historia clínica:

ECG (velocidad del papel): _____ Ritmo (sinusal=normal, arritmico): _____

FC (70-160 lpm): _____ P-R (0.06-0.13 seg = 3 a 6 ½ cuadr): _____

P (<0.04 seg = 2 cuadr de ancho, <0.4mv = 4 cuadr QRS (<0.05 seg=2 ½ cuadr): _____

de alto): _____ altura R (<2.5 mv=25 cuadr). Si es = 0.5 mv revisar en I, III

R en I < III y aVF: _____ y aVF: _____

_____ S-T (seg) en II, III, aVF y V2: _____

Depresión (>0.2mv) o elevación (>0.15mv) de S-T: _____

CV₃RL (V₁) = onda T positiva: _____ onda T (+, - ó bifásica): _____

CV₆LL (V₂) = onda S <0.8 mv (8 cuadr), onda R <2.5mv altura T (<1/4 de R): _____

(25 cuadr) _____ intervalo Q-T (ancho: 0.15 a 0.25 seg = 7 ½ a 12 ½ cuadr

CV₆LU (V₄) = onda S <0.7 mv (7 cuadr), onda R <3.0mv (30 en FC normal; a >FC el intervalo es más corto y a <FC es

cuadr) _____ más largo: _____

V₁₀ (V₆) = R neg, ondaT neg: _____ Eje eléctrico (+40° a +100°): _____

En III R con forma de "M" _____

En II P o R aisladas entre complejos completos: _____

Observaciones especiales: _____

Leído por/fecha: _____

Juan Badiano No. 1 Col Sección XVI Del. Tlalpa C.P. 14080 México, D.F.
t. +52 (55) 5573 2911 f. +52 (55) 5573 0934 www.cardiologia.org.mx

Anexo 3. Interpretación de las anormalidades halladas en los ECGs de perros (Mucha y Belerenian, 2008).

Cuando el segmento **P-R** está **retrasado** (con bradicardia arritmia): se alarga y se interpreta como bloqueo aurículo ventricular de primer grado.

Cuando **R** es mayor en **III** y/o en **aVF** es menor que en **I**: aumento de ventrículo izquierdo, hipertrofia concéntrica.

Cuando **R** es de **0.5** o menor: bloqueo fascicular, efusión pericárdica, efusión pleural, hipotiroidismo, enema pulmonar, enfisema, neumonía, daño miocárdico, cardiopatía por fibrosis, bloqueo de rama, bajos voltajes también son infartos.

Cuando **R** es mayor a **2.5 mV**: aumento de ventrículo izquierdo.

R en apariencia de “**M**”: complejo prematuro ventricular (extrasistoles).

Cuando el complejo **QRS** está **retrasado**: aumento de ventrículo izquierdo y bloqueo de rama izquierda, si está combinado con desviación de eje a la derecha entonces es bloqueo de rama derecha.

Cuando el intervalo **Q-T** con bradicardia es más corto (**<0.15 s**): hipercalcemia por hiperparatiroidismo, pseudohiperparatiroidismo con linfomas, mieloma múltiple o calcio intravenoso.

Cuando hay **depresión del segmento S-T**: isquemia miocárdica, infarto miocárdico, hiperkalemia, hipokalemia, toxicidad digitalis y trauma al corazón.

Cuando hay **elevación del segmento S-T**: infarto miocárdico, pericarditis e hipoxia miocárdica.

Cuando la **altura de T** es mayor a $\frac{1}{4}$ de **R**: hipoxia miocárdica, bloqueo de rama o agrandamiento de ventrículo, también enfermedades metabólicas o respiratorias.

Cuando **T** sobresale del complejo **QRS** (más alta que **R**): defectos de conducción intraventricular = bloqueo de rama derecha o izquierda, agrandamiento ventricular e infartos al miocardio.

Cuando **S** en **V₂** es mayor **0.8 mV**: agrandamiento de ventrículo derecho, siempre y cuando vaya con dos de los siguientes hallazgos: eje eléctrico mayor de 100°, la onda **S** en **V₄** sea mayor a 0.7, la onda **S** en **I** sea mayor a 0.05, la onda **S** en **II** sea mayor a 0.35 mV, la onda **T** sea positiva en **V₆**, apariencia de “**W**” en **V₆**.

Onda **T** **negativa**: sugiere infarto al miocardio.

Cuando **T** en **V₆** es **positiva**: aumento de ventrículo derecho (excepto en la raza Chihuahua).
Infartos al miocardio.

Cuando en **V₁** la **onda T no es positiva**: hay un cambio de polaridad por infartos al miocardio.

Complejos **QRS invertidos** (negativos) en aVR, AVL y V₄: bloqueo de rama izquierda.

Anexo 4: Registro de parámetros clínicos durante la administración de AmB.

Akatzin

Akatzin 25 DPI				Akatzin 28 DPI				Akatzin 31 DPI				Akatzin DPI			
Tx 1		21-ago		Tx 2		24-ago		Tx 3		27-ago		Tx 4		29-ago	
Hora	FC	T° C	FR	Hora	FC	T° C	FR	Hora	FC	T° C	FR	Hora	FC	T° C	FR
08:27	164	-	-	10:30	158	38.9	-	09:30	144	38.6	22	08:35	120	38.4	21
08:40	-	39.6	-	10:45	154	38.8	-	10:00	147	38	22	08:50	120	38.4	18
08:46	153	-	-	11:00	145	38.4	-	10:15	93	38	19	09:05	110	38	15
09:00	140	39	-	11:15	156	38.4	-	10:30	112	38.5	23	09:20	104	38.3	14
09:15	-	38.8	-	11:30	166	38	23	10:45	104	38.3	21	09:35	99	38	17
09:20	136	-	-	11:45	144	38.4	21	11:00	140	38	21	09:50	82	38	18
09:30	-	39	-	12:00	152	38.6	22	11:15	116	38.2	17	10:05	104	38.2	18
09:33	128	-	-	12:15	146	38.5	21	11:30	106	38.5	15	10:20	89	38.3	15
09:45	152	38.5	-	12:30	131	38.3	25	11:45	106	38.3	15	10:35	80	37.9	17
10:00	138	38.6	-	12:45	109	38.5	19	12:00	106	38.4	15	10:55	94	38.1	17
10:15	114	39.2	-	13:00	101	38.6	20	12:30	110	38.4	17	11:25	86	38.4	23
10:30	88	39.1	-	01:15	114	38.8	21	12:45	93	38.3	19	12:00	179	38.2	24
10:45	99	39.3	-	13:30	123	38.6	23	13:00	83	38.5	20				
11:00	96	39.3	-	02:00	152	38.7	25	13:30	101	38.6	17				
11:30	97	39.4	-	14:30	138	38.4	26								
12:00	100	39.4	-	15:00	156	38.8	23								
12:30	130	39.1	-	15:30	156	-	25								
12:44	138	39.2	-												

FC = frecuencia cardiaca, T °C = temperatura, FR = frecuencia respiratoria

Tika

Tika 22 DPI				Tika 25 DPI				Tika 28 DPI				Tika 31 DPI			
06-nov		Tx 1		06-nov		Tx 2		12-nov		Tx 3		15-nov		Tx 4	
Hora	T° C	FC	FR	Hora	T° C	FC	FR	Hora	T° C	FC	FR	Hora	T° C	FC	FR
08:45	38.5	126	26	09:00	38.4	115	29	09:04	38.2	113	25	08:50	38.5	162	32
09:45	38.5	86	26	10:00	38.7	108	34	10:00	38.4	127	32	10:35	38.5	124	44
10:45	39.2	100	22	11:00	38.6	97	31	11:00	38.6	108	18	11:35	38.6	114	34
11:45	38.9	91	23	12:50	39.6	120	35	12:00	38.8	116	28	12:40	39	75	38
								13:00	39.3	144	38				

T °C = temperatura, FC = frecuencia cardiaca, FR = frecuencia respiratoria.

Itzel

Izel 25 DPI				Izel 28 DPI				Izel 31 DPI				Izel 35 DPI			
19-oct		Tx 1		22-oct		Tx 2		25-oct		Tx 3		29-oct		Tx 4	
Hora	T° C	FC	FR	Hora	T° C	FC	FR	Hora	T° C	FC	FR	Hora	T° C	FC	FR
09:15	106	37.7	20	08:35	37.9	100	30	08:56	37.3	-	-	09:25	37.7	82	20
09:45	96	37.8	19	09:05				09:09	-	102	26				
10:15	86	38.3	20	09:35				10:00	38	84	19	11:30	38.2	96	18
10:45	98	37.8	19	10:05		72	18	11:00	38.4	76	16	12:30	38.6	94	16
11:15	103	38.1	20	10:35	37.1	81	14	12:00	39	86	22				
11:45	106	38.5	17	11:30	37.7	74	18	01:00	38.5	74	26				
12:25	102	38.4	18	12:30	38.2	77	22								
12:45	130	38.3	18	01:36	38.4	94	22								
13:15	97	38.3	14	02:41	38.6	93	25								
13:45	106	38.4	12	04:00	38.3	108	22								

T °C = temperatura, FC = frecuencia cardiaca, FR = frecuencia respiratoria.

Tepilli

Tepilli 25 DPI				Tepilli 28 DPI				Tepilli 32 DPI				Tepilli 32 DPI			
22-sep		Tx 1		25-sep		Tx 2		29-sep		Tx 3		31-oct		Tx 4	
Hora	T° C	FC	FR	Hora	T° C	FC	FR	Hora	T° C	FC	FR	Hora	T° C	FC	FR
09:15	38.3	118	36	09:13	38.2	87	23	09:25	37.6		20	11:02	39.9	88	13
				10:00	38.2	73	19					12:23	38.9	152	29
11:00	38	128	24	11:00	38.3	81	23	11:30	38.4	110	14				
12:00	38	138	23	12:15	38.5	90	24	12:30	38.8	100	22				
01:00	38.3	113	17					00:00							
02:23	38.5	99	28												
04:00	38.5	172	28												

T °C = temperatura, FC = frecuencia cardiaca, FR = frecuencia respiratoria.

Xipilli

Xipilli 25 DPI	Tx 1	28-ago		Xipilli 28 DPI	Tx 2	31-ago		Xipilli 31 DPI	Tx 3	03-sep	
Hora	FC	T° C	FR	Hora	FC	T° C	FR	Hora	FC	T° C	FR
09:03	133	38.6	30	08:15	153	38.6	29	09:46	160	38.1	38
09:45	147		17	08:30	130	38	32	10:01	124	38	39
10:00	120	37.9	23	08:45	130	38.1	28	10:16	140	37.9	39
10:15	133	37.8	32	09:00	135	37.9	28	10:31	142	37.5	42
10:30	139	37.4	34 "#	09:15	118	38	35	10:46	128	37.7	37
10:45	134	37.4	26	09:30	142	37.9	46	*11:01	138	37.8	32
11:00	137	37.3	26	09:45	133	38.1	33	11:16	146	37.6	39
11:15	138	36.6	23	10:00	138	38	29	**11:31	133	37.7	34
11:30	132	37.1	26	10:15	139	38.2	30	11:46	150	37.6	33
11:45	123	37	31	10:30	128	38.3	29	12:01	143	37.9	30
12:00	117	37	36	10:45	124	38.1	32	12:15	120	37.7	26
12:30	139	36.9	38	11:15	129	38.8	28	12:30	101	38.1	28
13:00	150	36.9	29	11:45	127	38.8	22	12:45	130	38	30
13:30	149	36.9	32	12:15	122	38.8	21	13:00	121	38.1	24
14:00	142	36.9	30	12:45	120	38.5	29	13:15	122	38	42
14:30	124	37.1	27	01:00	100	38.5	28	***01:30:00 p.m.	139	38.1	26
03:00	141	37.1	29					13:45	123	38.2	41
03:30	123	37.1	25					14:00	110	38.1	30
04:00	119	37.6	28					14:15	109	38.4	27
								14:30	126	38.4	27
04:30	157	37.7	33					14:45	132	38.7	24
								15:00	134	38.8	34
								15:15	130	38.9	36
								15:30	108	38.8	48

T °C = temperatura, FC = frecuencia cardiaca, FR = frecuencia respiratoria.

Aztlán

Aztlán control AmB	23-oct	Tx 1	Aztlán control AmB	26-oct	Tx 2	Aztlán control AmB	29-oct	Tx 3	Aztlán control AmB	01-nov	Tx 4				
Hora	T° C	FC	FR	Hora	T° C	FC	FR	Hora	T° C	FC	FR				
09:30	37.5	80	19	09:20	38	94	25	09:20	37.9	90	19	11:02	39	88	21
10:30	37.8	96	18	10:30	37.7	96	21	11:30		98	18	12:22	38.1	109	22
11:30	37.3	104	18	11:20		99	15	12:30	38.1	106	24				
12:30		85	21	12:20	38.3	90	19								

T °C = temperatura, FC = frecuencia cardiaca, FR = frecuencia respiratoria.

Cualitzin

Cualitzin control AmB	23-oct	Tx 1	Cualitzin control AmB	26-oct	Tx 2		
Hora	T° C	FC	FR	Hora	T° C	FC	FR
09:20	37.4	90	29	09:00	37.3	87	22
10:30	37.4	102	14	10:30	37.4	73	23
11:30	37.5	114	24	11:20	37.4	89	20
12:30	37.5	120	26	12:20	37.4	109	25

T °C = temperatura, FC = frecuencia cardiaca, FR = frecuencia respiratoria.