

P. 3154.9
266

POSTGRADO DE CARDIOLOGÍA-ULA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES CARDIOVASCULARES
INSTITUTO DE INMUNOLOGÍA CLÍNICA (IDIC)-ULA
INSTITUTO AUTÓNOMO HOSPITAL UNIVERSITARIO DE LOS ANDES
FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD DE LOS ANDES

DONACION

MARCADORES DEL COLAGENO INTERSTICIAL EN PACIENTES
CHAGASICOS CON GEOMETRÍA VENTRICULAR NORMAL O HIPERTROFIA
VENTRICULAR CONCENTRICA, EN PRESENCIA DE CO-MORBILIDADES.

Bdigital.ula.ve

AUTOR: Dr. Gabriel López

TUTOR: Dr. Diego Dávila Spinetti.

TUTOR METODOLÓGICO: Dr. José Donis H.

ASESORES: Dra. Siham Salmen, Dra. Lisbeth Berrueta

COLABORADORES:

Dra. Marianna García

MERIDA, VENEZUELA

2012.

SERBIULA
Tulio Febres Cordero

C.C.Reconocimiento

**MARCADORES DEL COLAGENO INTERSTICIAL EN PACIENTES
CHAGASICOS CON GEOMETRÍA VENTRICULAR NORMAL O HIPERTROFIA
VENTRICULAR CONCENTRICA, EN PRESENCIA DE CO-MORBILIDADES.**

**TRABAJO ESPECIAL DE GRADO PARA OPTAR AL TITULO EN
ESPECIALISTA EN CARDIOLOGIA**

Bdigital.ula.ve

**TRABAJO ESPECIAL DE GRADO PRESENTADO POR EL MÉDICO CIRUJANO
GABRIEL ALEJANDRO LOPEZ MENDEZ, CI: 16.220.875 ANTE EL CONSEJO
DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
COMO CREDENCIAL DE MÉRITO PARA LA OBTENCIÓN DEL GRADO DE
ESPECIALISTA EN CARDIOLOGÍA**

C.C.Reconocimiento

AUTOR:

Gabriel Alejandro López Méndez: Residente de Tercer año del Post-Grado de Cardiología. Instituto de Investigaciones Cardiovasculares. Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes. Mérida – Venezuela.

TUTOR:

Dr. Diego Dávila Spinetti: Médico Internista y Cardiólogo. Doctor en Fisiología, Ph.D. Mención Fisiología Cardiovascular. Investigador PPI-III. Programa de Promoción a la Investigación. Ministerio de Ciencia y Tecnología. Profesor Titular. Facultad de Medicina de la Universidad de Los Andes. Adjunto del Instituto de Investigaciones Cardiovasculares de la Universidad de Los Andes. Mérida – Venezuela.

TUTOR METODOLÓGICO:

Dr. José Donis H.: Profesor Titular e Investigador PPI-II del CONICIT. Adjunto del Instituto de Investigaciones Cardiovasculares - ULA. Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes (IAHULA) Mérida – Venezuela.

ASESORES:

Dra. Siham Salmen Halabi: Profesor Agregado. Médico Cirujano. Magíster Scientiae en Inmunología. Doctorado en Ciencias Médicas, Mención Inmunología.

Dra. Lisbeth Berrueta Carrillo: Profesor Titular, Médico Cirujano. Magíster Scientiae en Inmunología. Doctorado en Ciencias Médicas, Mención Inmunología. Post Doctoral Fellowship in Immunology, Harvard Medical School, Boston, USA.

COLABORADORES:

Dra. Marianna Andreina García Saldivia: Residente de Tercer año del Post-Grado de Cardiología. Instituto de Investigaciones Cardiovasculares. Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes. Mérida – Venezuela.

INDICE DE CONTENIDO

Agradecimientos.....5

Resumen.....6-8

Introducción.....9

Hipótesis.....22

Objetivos Generales..... 23

Objetivos Específicos.....23

Materiales y Métodos.....24

Población en Estudio.....24

Evaluación Clínica y Ecocardiográfica.....25

Determinación de la presencia de MMP: 1-2-9 y TIMPS: 1-2 en suero mediante western blot.....26

Análisis Estadístico.....28

Resultados..... 29-42

Discusión.....43-45

Limitaciones.....46

Conclusiones.....47

Bibliografía.....48-52

Anexo 1.....53-54

AGRADECIMIENTOS

Gracias a Dios todo poderoso, por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

Gracias a María José por tu apoyo, amor, consideración y aliento para alcanzar y lograr este objetivo.

Gracias a Marianna García, sin cuya colaboración este trabajo hubiera sido posibles Gracias por tu buen criterio, tu capacidad de esfuerzo y tu amistad.

Gracias a mis padres, Tania y Pedro y mi hermana Andrea por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor.

Gracias, a mis tutores, los doctores Diego Dávila Spinetti y José Donis. Gracias por su paciencia, dedicación, motivación, criterio y aliento. Han hecho fácil lo difícil. Ha sido un privilegio poder contar con su guía y ayuda.

Gracias a la Dra. Siham Salmen Halabi y a la Dra. Lisbeth Berrueta Carrillo por su decisivo apoyo en este trabajo de investigación.

Gracias a la Universidad de los Andes y al instituto de investigaciones Cardiovasculares en todo lo referente a mi vida como alumno de postgrado.

Gracias al Instituto de Inmunología clínica de la ULA, y su técnico Mabel Soto por la colaboración prestada en la realización de esta investigación

Gracias a los amigos a los que he robado horas de compañía. Nombrar a todos sería muy extenso y podría cometer algún olvido injusto, por ello, ¡gracias, amigos, por estar ahí!

RESUMEN

Antecedentes: Estudios prospectivos y transversales de pacientes hipertensos han demostrado que, el proceso de remodelación cardíaca, se caracteriza por un aumento de la masa cardíaca a expensas de engrosamiento de las paredes ventriculares, sin dilatación de la cavidad. Este proceso, desencadenado por la sobrecarga de presión, provoca un aumento del colágeno intersticial y mayor expresión en sangre periférica de las metaloproteinasas encargadas de la síntesis y deposición del mismo (MMP9). En los pacientes con enfermedad de Chagas, asociada a hipertensión arterial, se desconoce cuál es la repercusión morfológica y bioquímica sobre el corazón de la sobrecarga crónica de presión.

Métodos y resultados: Mediante ecocardiografía bidimensional y pruebas serológicas para despistaje de la enfermedad de Chagas, se estudiaron 39 pacientes con serología para Chagas positiva y 32 pacientes con serología para Chagas negativa. De los pacientes seropositivos, 25 eran hipertensos y 14 pacientes eran no hipertensos. A todos los pacientes se les determinó el patrón geométrico ventricular izquierdo por ecocardiografía bidimensional y se les cuantificó en sangre periférica, mediante la técnica de Western Blott, las metaloproteinasas 2, 9, y sus respectivos inhibidores TIMP 1 y TIMP 2. En los pacientes hipertensos sero-positivos y sero-negativos predominaron por igual los patrones de remodelado concéntrico e hipertrofia concéntrica. La mayor expresión de la metaloproteinasa 9 se encontró en estos últimos, independientemente de la serología para Chagas. La metaloproteinasa 2 no aumentó en ninguno de los grupos estudiados.

Conclusión: El paciente chagásico con hipertensión arterial sufre los mismos cambios de remodelación de la geometría del ventrículo izquierdo que el paciente hipertenso no chagásico. Los marcadores bioquímicos del colágeno intersticial, de pacientes chagásicos

con hipertrofia ventricular concéntrica e hipertensión arterial son semejantes a los observados en pacientes no chagásicos hipertensos.

Palabras clave: Enfermedad Chagásica, Metaloproteinasas, Inhibidor del factor de las metaloproteinasas, hipertensión arterial.

Bdigital.ula.ve

ABSTRACT

Background: Prospective and transverse studies have evaluated the activity of metalloproteinases (MMPs) in patients with arterial hypertension. In these patients with concentric cardiac remodeling predominates the enzyme MMP9 which is responsible for the synthesis and deposition of collagen. The purpose of this study is to determine the morphological and biochemical changes in patients with Chagas disease and essential hypertension.

Methods and results: We performed two dimensional echocardiograms and serological tests for Chagas disease in 32 hypertensive patients and in 29 patients without essential hypertension. All patients had Western Blott analysis to determine the serum levels of metalloproteinases 2, 9, and their respective inhibitors (TIMP 1 and TIMP 2). We have found that hypertensive patients, irrespective of the serology for Chagas disease, had a similar prevalence of concentric remodeling and concentric hypertrophy. The latter had the highest values of MMP 9, whereas MMP2 was not augmented.

Conclusion: Chagasic patients with hypertension undergo concentric cardiac remodeling changes as non chagasic hypertensive patients. The biochemical markers of interstitial collagen, are also similar to those of non-chagasic hypertensive patients.

Keywords: Chagas Disease, metalloproteinases, inhibitor of metalloproteinases factor, hypertension.

1. Introducción

Los mecanismos responsables del daño miocárdico y de su progresión hacia la insuficiencia cardíaca congestiva crónica, del paciente con enfermedad cardíaca chagásica, son desconocidos. Sin embargo, las alteraciones estructurales y funcionales del miocardio ventricular izquierdo son semejantes a las descritas en otras enfermedades cardíacas, con disfunción ventricular sistólica (1-8). En particular destacan las alteraciones segmentarias de la motilidad ventricular izquierda y la marcada fibrosis intersticial (9-14). En esta revisión, nos proponemos analizar la información disponible sobre ésta última y estudiar la presencia de posibles marcadores séricos del metabolismo del colágeno, en pacientes chagásicos con geometría ventricular normal y con hipertrofia ventricular concéntrica.

2. Historia natural de la enfermedad de Chagas

La Enfermedad de Chagas es endémica en Suramérica con una prevalencia de 8 a 10 millones de personas infectadas. En nuestro país, para el año 2002 se describe una prevalencia que va de 22.8 % en el Estado Barinas a 4.9 % en el Estado Mérida (15). La enfermedad se caracteriza por una fase aguda inicial autolimitada y generalmente asintomática, cuya secuela principal es una fibrosis segmentaria que afecta particularmente a la región del ápex ventricular izquierdo (Aneurisma de la punta) y en menor medida a las otras regiones cardíacas. (10-14). La fase aguda es seguida de una etapa indeterminada o de transición, donde los exámenes convencionales (Electrocardiograma y Radiografía de Tórax) son normales. La tercera fase final o arritmico-congestiva se presenta en un 20% de los pacientes. El daño miocárdico, secuela de la fase aguda, es regional en los pacientes

asintomáticos y se hace difuso en los pacientes con síntomas debidos a la progresión de la enfermedad cardíaca. En otras palabras, la Enfermedad de Chagas evoluciona de un daño miocárdico localizado, a una forma de miocardiopatía congestiva con daño miocárdico difuso (1-3)

3. Patogénesis de la enfermedad cardíaca chagásica

Los mecanismos responsables de esta particular progresión del daño miocárdico, en la enfermedad cardíaca chagásica, son desconocidos. Para explicar la progresión del daño cardíaco, se han propuesto 4 teorías: 1.- Teoría microvascular. 2.- Disautonomía cardíaca. 3.- Daño miocárdico por persistencia del parásito. 4. Daño mediado por la respuesta autoinmune. (2,10-14). Las alteraciones de la microcirculación constituyen una peculiaridad prominente en la miocardiopatía chagásica; sin embargo, su papel en la patogénesis de las lesiones crónicas del miocardio probablemente es secundario y no fundamental. Por el contrario, las alteraciones del control autonómico cardíaco, en particular la activación de los sistemas simpático y Renina angiotensina aldosterona son determinantes en la progresión del daño miocárdico hacia la insuficiencia cardíaca sistólica (7,16). Alteraciones semejantes se presentan en las enfermedades no chagásicas con remodelación excéntrica (16).

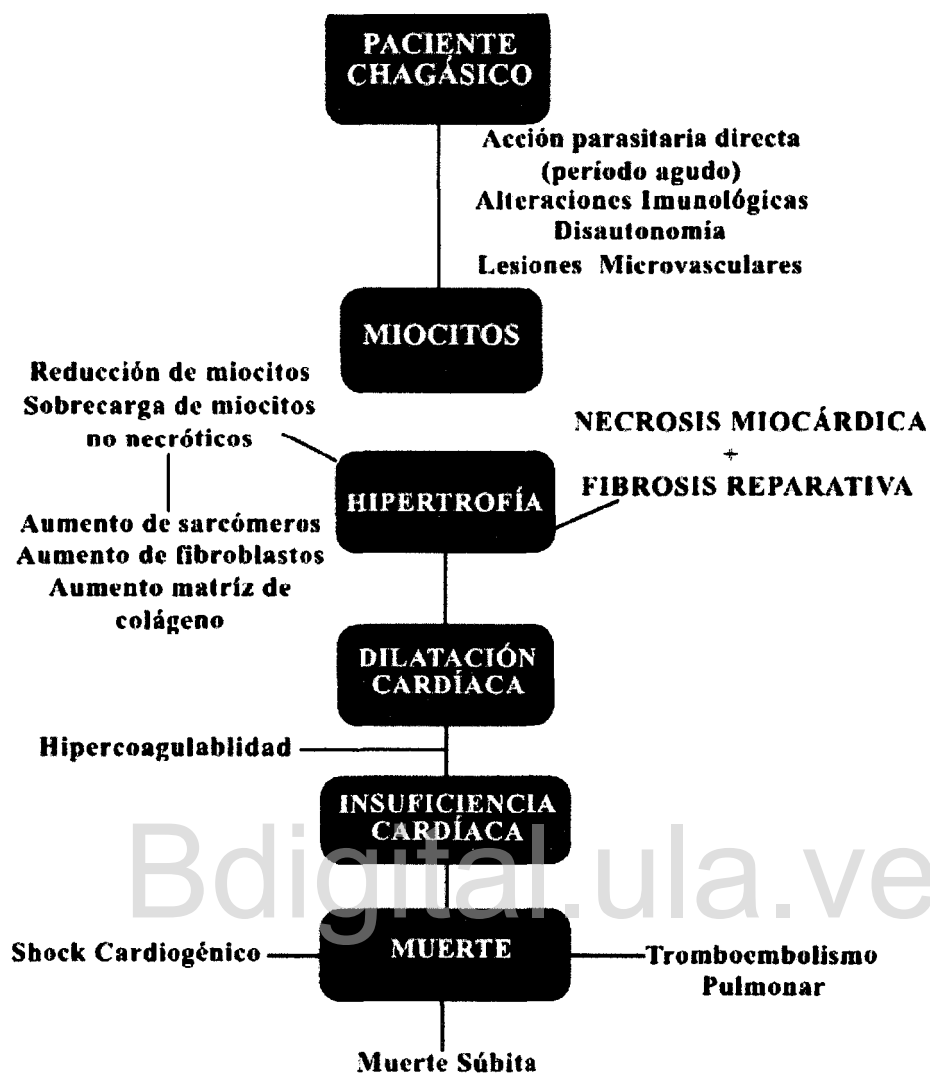


Figura 1. Historia natural y patogénesis de la enfermedad cardíaca chagásica.

La persistencia del parásito, en el miocardio de los pacientes con enfermedad de Chagas, es considerada como un factor adicional en la patogénesis de la enfermedad de Chagas. Su persistencia provocaría una inflamación de bajo grado, pero persistente y explicaría la progresión del daño miocárdico hacia la insuficiencia cardíaca. La hipótesis de daño miocárdico por auto-anticuerpos ha sido seriamente cuestionada por el hecho de

que, los niveles séricos de los auto-anticuerpos no se correlacionan con el grado de daño miocárdico o de disfunción ventricular (14,17).

4. La enfermedad de Chagas asociada a hipertensión arterial y diabetes mellitus II.

La prevalencia de hipertensión arterial y diabetes mellitus en pacientes con serología positiva para Chagas es menor que la de la población general. Estudios transversales llevados a cabo en Brasil muestran una prevalencia de 18 % y 1.6 % respectivamente. Sin embargo, en pacientes sero-positivos mayores de 60 años, la prevalencia de estas co-morbilidades aumenta considerablemente (Hipertensión arterial 39.3 - 56.7). **La adaptación morfológica y funcional del miocardio del paciente sero-positivo asintomático, en presencia de co-morbilidades, no ha sido estudiada mediante ecocardiografía.** Estudios aislados refieren la presencia de hipertrofia ventricular concéntrica, inferida de las alteraciones electrocardiográficas. No obstante, los pacientes sero-positivos con hipertensión arterial, en la fase tardía de insuficiencia cardíaca congestiva, tienen hipertrofia ventricular excéntrica. Se desconoce, si en estos pacientes se presenta una etapa intermedia de hipertrofia ventricular concéntrica, en la transición hacia la insuficiencia cardíaca congestiva sistólica (18-22).

5. Geometría ventricular izquierda y colágeno intersticial cardíaco en pacientes chagásicos y en pacientes hipertensos.

Investigaciones clínicas prospectivas han demostrado que, en los corazones de los pacientes con enfermedad de Chagas se produce una dilatación progresiva de la cavidad ventricular izquierda, adelgazamiento de las paredes ventriculares y reducción de la fracción de eyección. Este fenómeno se observa fundamentalmente en pacientes con

alteraciones de la motilidad segmentaria y es semejante al proceso de remodelación cardiaca de los pacientes isquémicos con antecedentes de infarto extenso del miocardio y miocardiopatías dilatadas (7, 13,16). En otras palabras, la adaptación morfológica y funcional del corazón del paciente chagásica, a la presencia de alteraciones de la motilidad segmentaria ventricular izquierda, tiene las características de hipertrofia ventricular excéntrica.

Estudios histopatológicos llevados a cabo en corazones de pacientes que fallecieron, como consecuencia de la evolución de la enfermedad hasta la insuficiencia cardiaca sistólica, muestran una marcada fibrosis intersticial, focos difusos de miocitos degenerados y una respuesta inflamatoria a predominio de células mononucleares. La fibrosis intersticial se caracteriza por engrosamiento de las fibras colágenas que rodean los haces de miofibrillas (22).

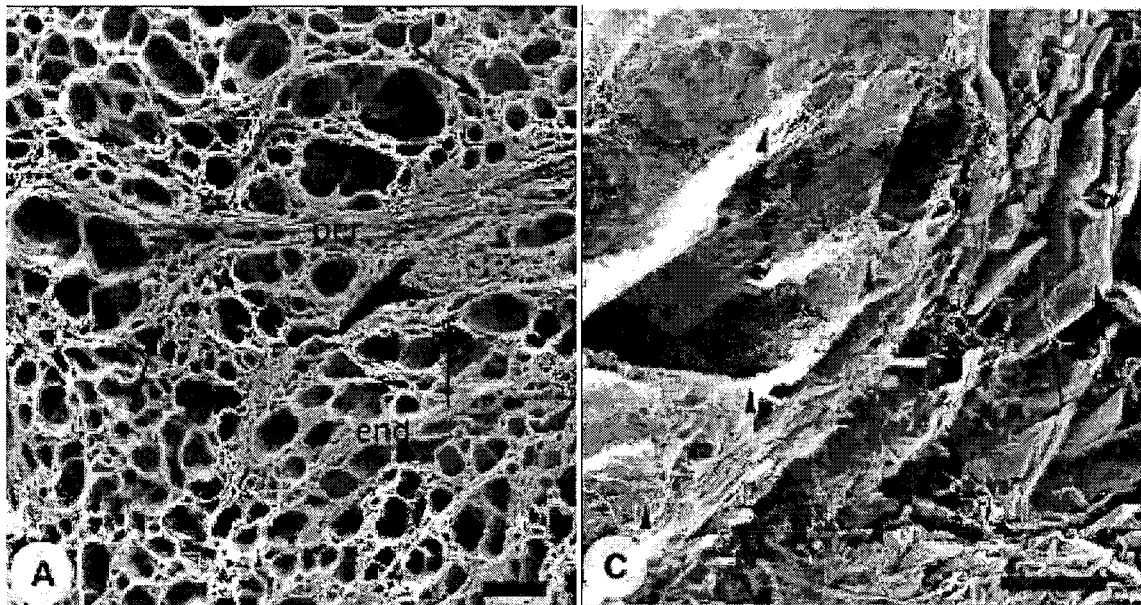


Figura 2. Fibrosis intersticial miocárdica en pacientes chagásica (Ref 22).

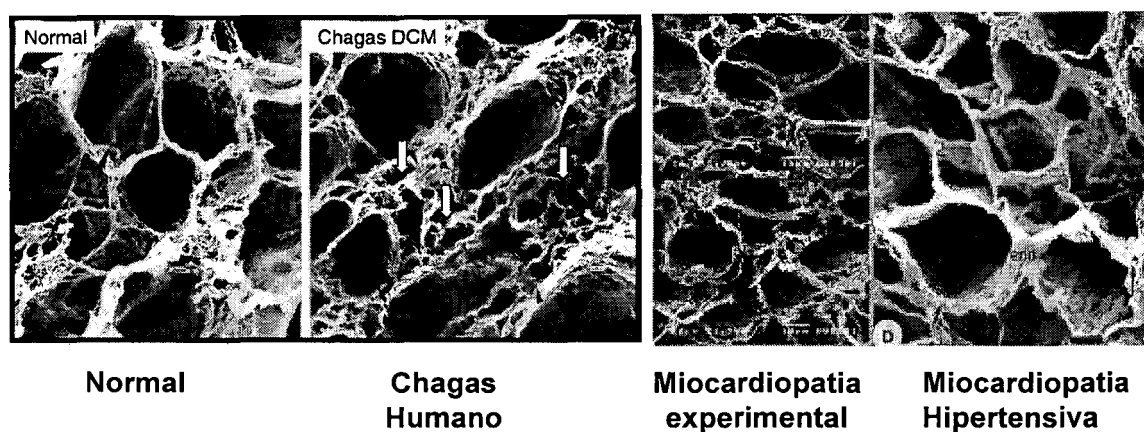


Figura 3. Alteraciones del colágeno endomisial con microscopia electrónica (Ref 22).

Las fibras del colágeno que envuelven los miocitos del paciente con enfermedad de Chagas se observan hipertrofiados y su estructura tiene alteraciones semejantes, a los hallazgos histopatológicos en modelos experimentales de geometría excéntrica e insuficiencia cardíaca sistólica (22-24). **Por el contrario, el colágeno endomisial del paciente hipertenso conserva su estructura normal y se aprecia marcadamente hipertrófico (Figura 3).** De la misma manera, las enzimas responsables de la degradación y de la síntesis del colágeno intersticial tienen un comportamiento opuesto, en presencia hipertrofia ventricular excéntrica versus concéntrica. Masaún, el marcaje inmunohistoquímico, de biopsias miocárdicas de los primeros, muestra un predominio de la metaloproteinasas (MMP), mientras que en los segundos esta acentuado el factor inhibitorio de las metaloproteinasas (TIMP) (Figura 4 y 5) (25-27).

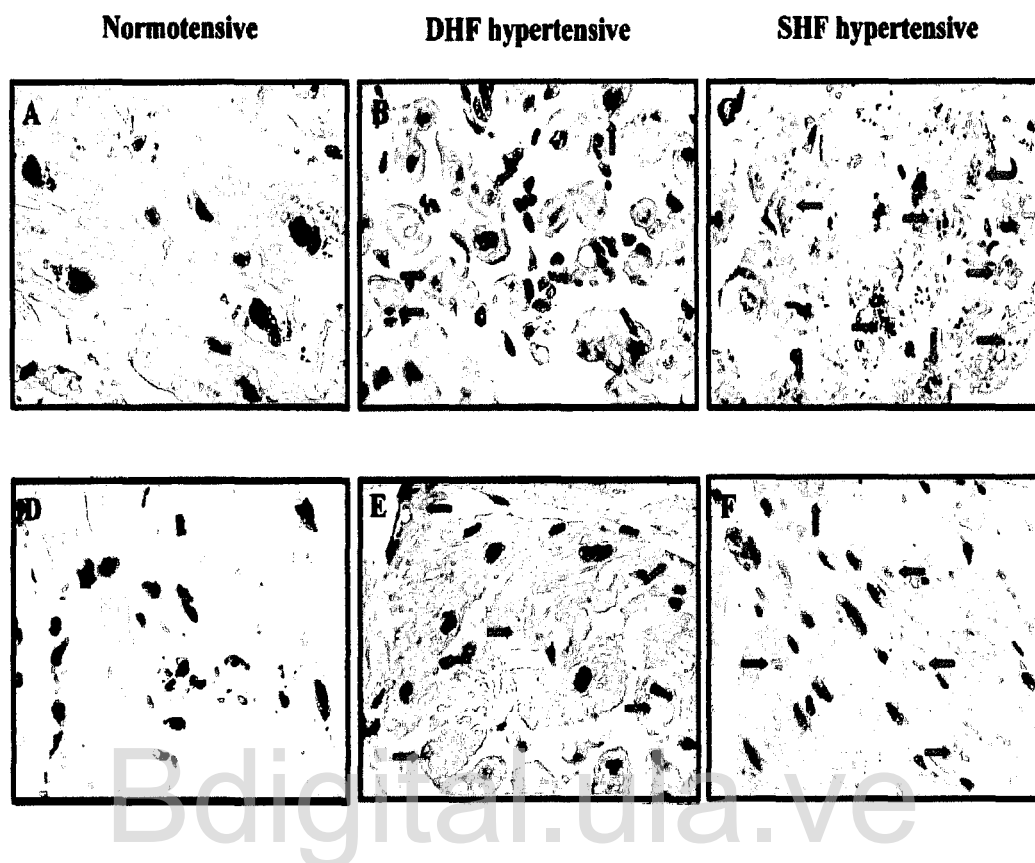


Figura 4. Metaloproteinasas (MMP) y factor inhibitorio de las metaloproteinasas (TIMP) en pacientes con hipertrofia ventricular excéntrica versus concéntrica. La presencia de gránulos marrones correspondientes a MMP es más acentuada en la hipertrofia excéntrica. Lo contrario se observa en relación a los gránulos que corresponde al TIMP

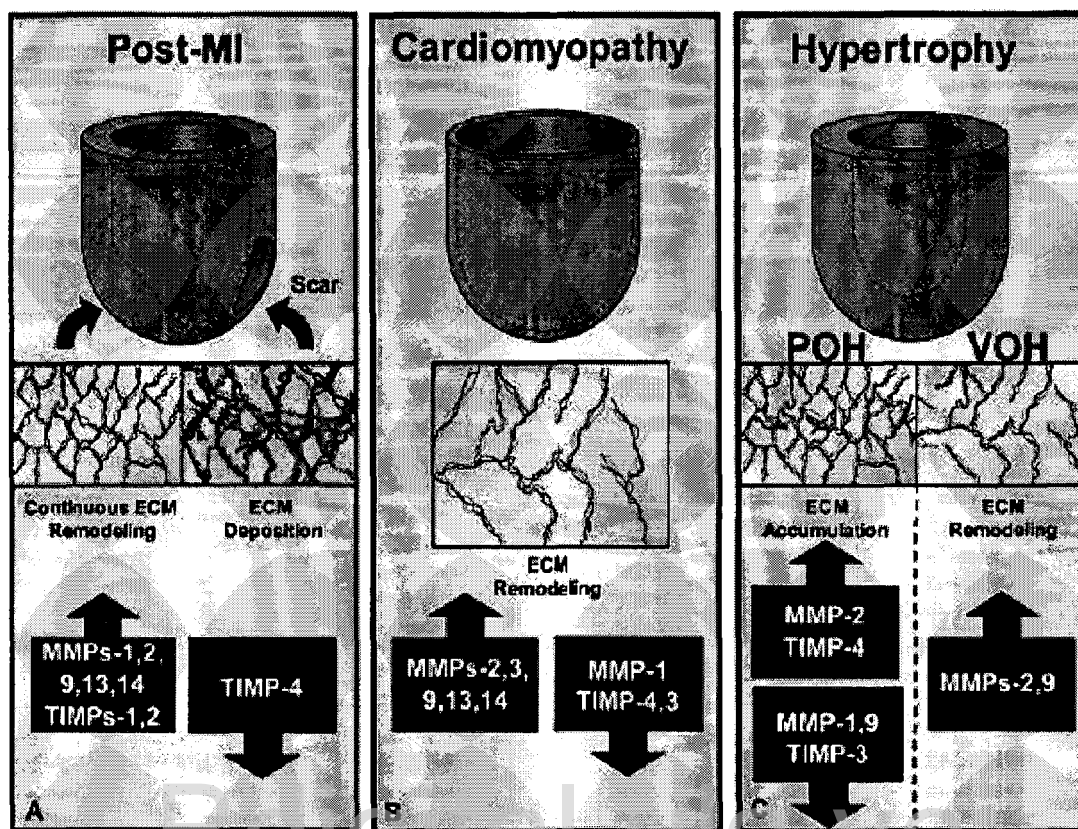


Figura 5. Geometría ventricular, colágeno intersticial, metaloproteinasas y factor inhibitorios de las metaloproteinasas.

6. Marcadores del colágeno intersticial y sistema neuro-endocrino.

6.1 Sistema Renina Angiotensina Aldosterona

Uno de los principales sistemas neurohumorales que regula el tamaño de la población celular cardiaca es el sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), con la angiotensina II (Ang. II) como su principal efector. A nivel celular, la Ang. II regula la contracción, el crecimiento, la apoptosis, la migración y diferenciación celular.

Adicionalmente, también regula la síntesis y secreción de los factores de crecimiento y el depósito de proteínas en la matriz extracelular (MEC). La Ang. II se une a dos tipos distintos de receptores, acoplados a proteínas G llamados receptores subtipo AT1 (AT1R) y subtipo AT2 (AT2R). En el adulto, la mayoría de los receptores de Ang. II son del subtipo AT1R, mientras que, el subtipo AT2R es re-expresado después de un daño vascular o cardíaco y durante la cicatrización de las heridas. Estos receptores se distinguen por su selectividad a distintos antagonistas no peptídicos. En el corazón, la mayoría de las acciones de la Ang. II son mediadas por el receptor AT1R.

6.2 Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona en fibroblastos y mio-fibroblastos.

El receptor se expresa AT1R por igual tanto en el fibroblasto como el mio-fibroblasto. Campbell y Katwa mostraron que la Ang II induce la expresión de TGF- β 1 (mRNA y proteína) en cultivos de mio-fibroblastos. Este efecto es mediado primariamente por el AT1R. De esta manera, la Ang II estimularía la formación de tejido fibrótico a través de la sobreproducción de TGF- β 1. Otros estudios han analizado la acción de la Ang II sobre la MEC cardíaca. Estos últimos son:

1. Induce aumento en la síntesis o degradación del colágeno a través de diferentes metaloproteinasas (MMPs). La actividad de estas enzimas está controlada por los inhibidores tisulares de las MMPs (TIMPs). Estos últimos también estarían regulados por la Ang II.

7. Remodelación cardíaca y marcadores séricos del colágeno intersticial en pacientes hipertensos no chagásicos.

El sistema neuro-endocrino, de los pacientes con hipertensión arterial esencial, ha sido estudiado en relación con la adaptación morfológica del corazón. El sistema RAAS predomina en los pacientes asintomáticos con geometría normal, remodelado concéntrico y en los que han desarrollado hipertrofia ventricular concéntrica (28) (Figura 6).

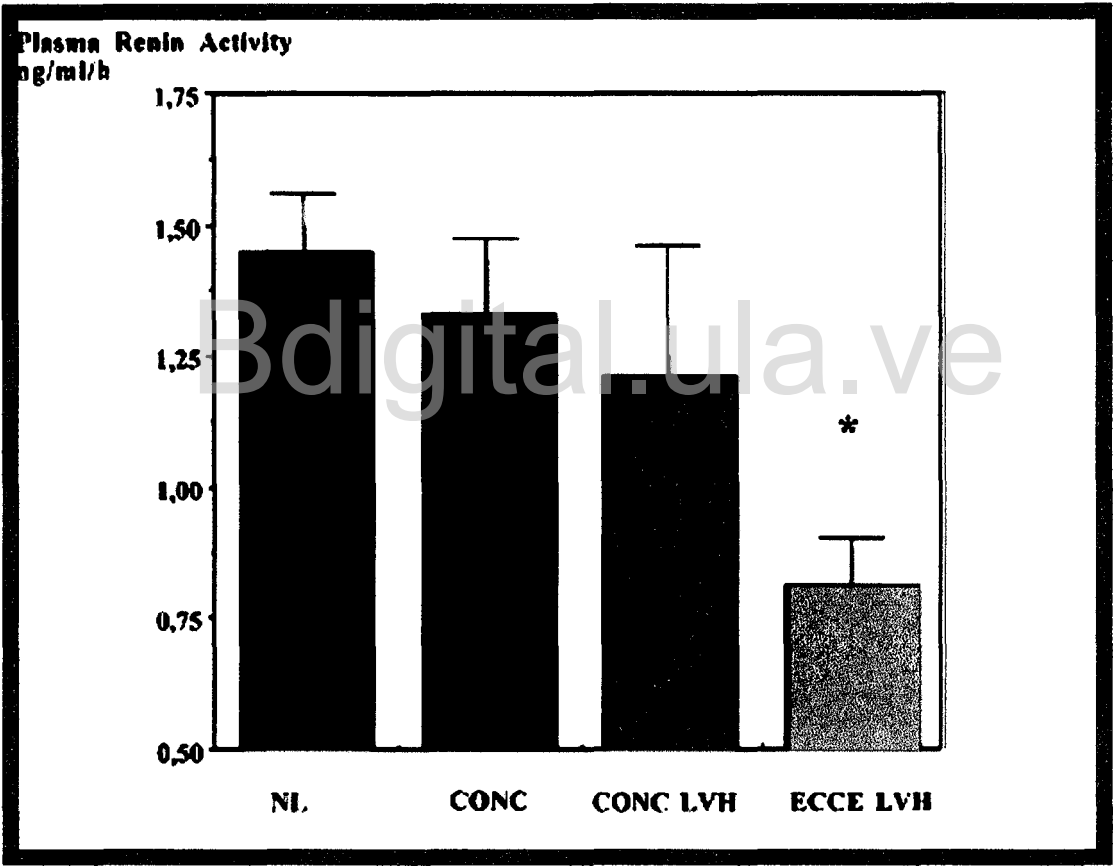


Figura 6. Adaptación morfológica del corazón y actividad de renina plasmática en pacientes hipertensos asintomáticos y no complicados.

Por el contrario, el sistema nervioso simpático, expresado por los niveles séricos de norepinefrina, tiene un mayor grado de activación en los pacientes hipertensos con hipertrofia ventricular excéntrica (Figura 7) (29). Los pacientes hipertensos pueden evolucionar hasta la insuficiencia cardiaca congestiva. Aquellos que conservan el patrón concéntrico desarrollan insuficiencia cardiaca diastólica, con igual predominio del RAAS. Por el contrario, los que conservan el patrón excéntrico e insuficiencia cardiaca sistólica tienen elevados los niveles de norepinefrina sérica (30) (Figura 8).

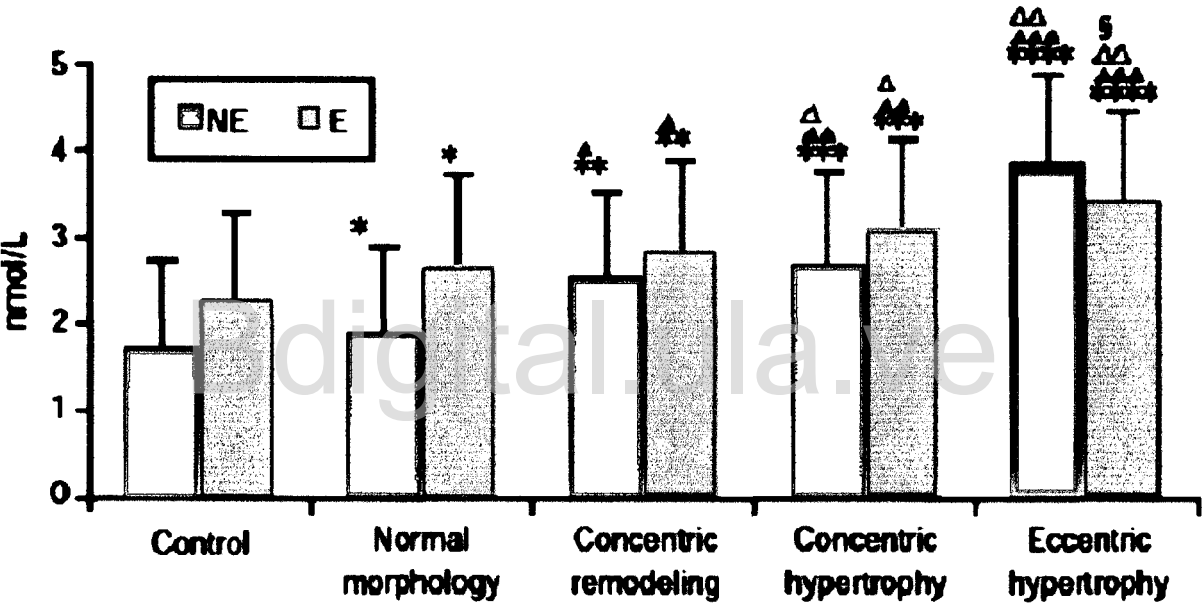


Figura 7. Niveles de norepinefrina y epinefrina séricas en pacientes hipertensos asintomáticos y no complicados de acuerdo con el patrón de geometría ventricular izquierda.

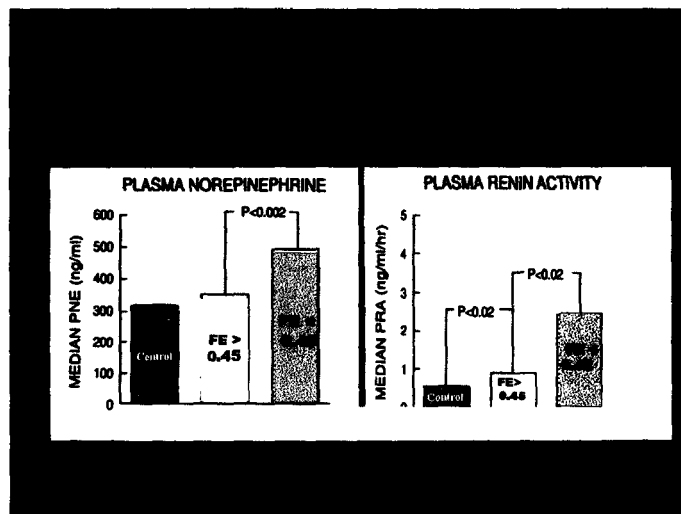


Figura 8. Activación neurohormonal en pacientes con insuficiencia cardiaca diastólica (FE > 0.45) e insuficiencia cardiaca sistólica (FE < 0.45).

La transición hacia estos dos fenotipos de insuficiencia cardiaca congestiva tiene características ecocardiográficas y bioquímicas opuestas. En efecto, los pacientes con hipertrofia ventricular concéntrica aumentan su espesor relativo de pared, disminuyen el tamaño del ventrículo izquierdo y alteran la relajación ventricular. En ellos se observa incremento progresivo en la actividad de las enzimas encargadas de la síntesis y acumulación de colágeno intersticial (MMP9). Por el contrario la MMP1 y MMP2, encargadas de la degradación del colágeno, se encuentran disminuidas. En relación con los diferentes TIMP, existe una gran controversia sobre cuál de ellos está aumentado o disminuido en los dos fenotipos conocidos de insuficiencia cardiaca (Sistólica versus diastólica) (25,26).

En resumen, los estudios analizados indican que, en los pacientes con enfermedad cardíaca chagásica e insuficiencia cardíaca congestiva, la adaptación morfo-funcional cardíaca comparte las características de la hipertrofia ventricular excéntrica. En otras palabras, el proceso de remodelación cardíaca es semejante al observado en los pacientes no chagásicos que evolucionan hacia la insuficiencia cardíaca sistólica. Por consiguiente, los marcadores bioquímicos del colágeno intersticial, de pacientes chagásicos con hipertrofia ventricular excéntrica con y sin insuficiencia cardíaca sistólica, deberían ser semejantes a los observados en pacientes no chagásicos con iguales alteraciones estructurales y funcionales. **Por el contrario, de existir un proceso de remodelación concéntrico, en los pacientes sero-positivos hipertensos y/o diabéticos, los marcadores serológicos del metabolismo del colágeno intersticial serían semejantes a los de los pacientes hipertensos no chagásica con hipertrofia ventricular concéntrica e insuficiencia cardíaca diastólica.**

HIPÓTESIS:

- Los pacientes chagásicos con hipertensión arterial y/o diabetes mellitus tipo 2, experimentan un proceso de remodelado del ventrículo izquierdo (Remodelado concéntrico – Hipertrofia concéntrica) similar al de los pacientes no chagásicos con hipertensión arterial.
- La expresión de los marcadores biológicos del metabolismo del colágeno intersticial serían semejantes, a los de los pacientes hipertensos no chagasicos, donde se produce un aumento de las MMPs a predominio de la 9

Bdigital.ula.ve

OBJETIVOS:

OBJETIVO GENERAL:

Determinar el patrón de expresión de las metaloproteinasas y el inhibidor de las metaloproteinasas en pacientes Chagásicos con comorbilidad.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

1. Determinar mediante ecocardiografía el patrón geométrico de los pacientes chagásicos hipertensos y/o diabéticos.
2. Determinar los niveles de metaloproteinasas (2-9) y TIMPS (1-2) en pacientes chagásicos hipertensos y/o diabéticos.
3. Comparación entre el patrón de MMPs y TIMPs entre los pacientes chagásicos con hipertrofia ventricular concéntrica con comorbilidad y pacientes chagásicos con remodelado concéntrico, hipertrofia concéntrica y comorbilidad.

2. MATERIALES Y METODOS:

Estudio observacional, analítico de corte transversal y de correlación, realizado en el Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes desde Agosto de 2011 a Agosto de 2012

2.1.-Población en estudio:

Se incluirán 2 grupos de pacientes:

1º Grupo: **Seropositivos para Enfermedad de Chagas con Hipertrofia ventricular izquierda concéntrica en presencia de comorbilidad (Hipertensión arterial y Diabetes Mellitus tipo 2)**, referidos al Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes.

2º Grupo: **Seropositivos para Enfermedad de Chagas con remodelado concéntrico en presencia de comorbilidad)**

Criterios de Inclusión:

- Pacientes de ambos sexos mayores de 18 años de edad con dos o más reacciones positivas para *T. cruzi* por método (Inmunofluorescencia indirecta, ELISA, con hipertrofia ventricular concéntrica izquierda o remodelado concéntrico
- Consentimiento informado para participar en el protocolo de estudio.

Criterios de Exclusión:

- Paciente chagásico no hipertenso, no diabético
- Desordenes sistémicos: Cardiopatía valvular, enfermedades de depósito, Insuficiencia Renal o Hepática, Enfermedad Broncopulmonar Obstructiva Crónica, Disfunción Tiroidea, Anemia, y/o Neoplasias.
- Alcoholismo Crónico.
- Embarazo.
- Ventana ecocardiográfica subóptima que impida la adecuada adquisición de las imágenes.

Evaluación clínica:

Se utilizó un formato de recolección de datos para cada paciente donde se incluyó: Edad, sexo, procedencia, antecedentes personales, síntomas actuales y medicación que reciben. Exámenes de laboratorio que incluyan, hematología completa, glicemia, funcionalismo renal y hepático. Radiografía de Tórax.

Evaluación Ecocardiográfica:

Se realizó ecocardiograma transtorácico en el Instituto de Investigaciones Cardiovasculares del Instituto Autónomo Hospital Universitario de los Andes (IAHULA) en equipo VIVID 7 (General Electric) con transductor sectorial 2.5 / 1.9 MHz. Las imágenes fueron adquiridas con la técnica habitual con el paciente en decúbito lateral izquierdo, obteniéndose imágenes en eje paraesternal largo y corto a nivel de grandes vasos, válvula mitral, músculos papilares y ápex. Posteriormente vista apical 4

cámaras, 2 cámaras y 3 cámaras. El examen fue dirigido a evaluar la función ventricular izquierda y el patrón geométrico.

Determinación de la presencia de MMP-2, MMP-9, TIMP-1 y TIMP-2 en suero mediante western blot

Las muestras de suero fueron colectadas y almacenadas a -70°C hasta el momento de su procesamiento. Veinte microlitros (20 μl) de suero se mezclará a partes iguales con buffer de muestra (50 mM de Tris-HCl, 2% P/V de SDS, 0,1% de Azul de Bromofenol, 10% V/V de glicerol y 100 mM de β -mercaptoetanol) y fueron sometidas a calentamiento durante 5 min a 100°C . Cada una de las muestras fue sometida a electroforesis y posteriormente electrotransferidas a membranas de PVDF a fin de realizar el western blot. La Electroforesis se llevo a cabo en gel de poliacrilamida en condiciones desnaturalizantes (SDS-PAGE). Para todas las corridas se utilizo un marcador de peso molecular Gibco BRL BenchMark™ a fin de realizar el cálculo del peso molecular de las proteínas en estudio.

Las proteínas separadas previamente fueron transferidas a membranas de PVDF, mediante la aplicación de corriente constante (150 mA) en presencia del buffer de transferencia (25 mM de Tris, 192 mM de Glicina, 20% de Metanol). Finalizado este tiempo la membrana fue bloqueada con TBS (100mM de NaCl, 10mM de Tris-HCl y 0,1% de Tween 20) más 0,5% de BSA durante 2 horas. Terminado el bloqueo las membranas se incubaron con los siguientes anticuerpos primarios: anti-MMP-1, anti-MMP-2, anti-MMP-9, anti-TIMP-1 y anti-TIMP-4, diluidos 1/200 en TBS-BSA al 0,5%. Luego de realizar los lavados respectivos se incubaron con los anticuerpos secundarios (anti-IgG de conejo y anti-IgG de raton), conjugados a HRP, diluidos 1/20000 en TBS-BSA al 0,5%. Para

finalizar y luego de lavar la membrana se incubaron con Luminol (SuperSignal West Dura Extended DurationSubstrate de PIERCE®) y se expusieron en oscuridad a una película de autoradiografía. (31-32).

Bdigital.ula.ve

Análisis Estadístico:

Cálculo del tamaño de la muestra: $n= 25$

Este cálculo se realizó a través del programa EXCEL, con un Intervalo de Confianza del 95%, con un Error α de 0,05; con un poder Estadístico del 80%. Los resultados obtenidos se analizaron de la manera siguiente. Las variables continuas se expresaron como Medias $\pm$ Desviación Estándar. Las variables categóricas se expresaron como frecuencias y porcentaje. Se aplicó el método de Kolmogorov-Smirnov para saber si las variables numéricas se distribuyen normalmente. Si la distribución fue normal se utilizó análisis de varianza muestras independientes y para aquellas no normales se usó el método de Mann Whitney. Se realizó análisis de correlación para todas las variables dependientes e independientes. Posteriormente se buscó a través de un modelo de regresión lineal múltiple con pasos sucesivos cual variable independiente explica mejor a la variable dependiente estudiada. Se considerará un valor de $p<0.05$ para ser estadísticamente significativo. Todos estos análisis se realizarán con el programa estadístico de SPSS versión 18.0 para Windows y Medcalc V 9.10

RESULTADOS

La inclusión de los pacientes en los diferentes grupos de investigación comenzó a partir del mes de Agosto de 2011 y se extendió hasta el mes de agosto de 2012. Un total de 71 sujetos fueron enrolados en los grupos de estudio. Las características basales de los pacientes estudiados se presentan en la **Tabla N° 1**. En este estudio solo se encontró un paciente con Chagas y presencia de Diabetes Mellitus tipo 2 por lo que no fue incluido en el análisis. Los sujetos incluidos se dividieron, en función de la serología para Chagas y la presencia de hipertensión arterial, en 4 grupos: 1. Pacientes con serología para Chagas positiva no hipertensos, 2. pacientes con serología negativa no hipertensos, 3. pacientes con serología positiva hipertensos y 4. Pacientes con serología negativa hipertensos. De igual forma se dividieron posteriormente en función del patrón geométrico, ya sea este normal, remodelado concéntrico, y el patrón de hipertrofia concéntrica. La media de edad para los pacientes con serología positiva no hipertensos fue de 49,64 años, en los pacientes con serología positiva hipertensos fue de 59,36 años, los seronegativo no hipertensos 3,33 años y los seronegativos hipertensos 55,71 años. Se incluyeron pacientes de ambos sexos, sin diferencia significativas entre los grupos. Los diferentes patrones geométricos del ventrículo izquierdo de la muestra estudiada se presentan en la **tabla N° 2**. Se puede apreciar una presencia semejante en el número de pacientes con remodelado concéntrico e hipertrofia concéntrica en los hipertensos seropositivos y seronegativos. En todos los pacientes incluidos se realizó la cuantificación de las metaloproteinasas MMP9, MMP2 (MMP220 K; MMMP260K) y del factor inhibidor de las mismas TIMP1 y TIMP2. Los valores fueron expresados en densidades ópticas según su migración en la corrida de Western Blot.

En relación a la MMP 9, se encontró un incremento importante de su expresión en los dos grupos de pacientes hipertensos. Este aumento fue significativamente mayor que el observado en los grupos de sujetos no hipertensos. Debe destacarse, no obstante, la ausencia de diferencia estadística entre los dos grupos de hipertensos y entre los dos grupos de sujetos no hipertensos (**Tabla N° 3, Grafico N°1**). De igual forma, cuando se analizaron los valores de la MMP9, de acuerdo con el patrón geométrico predominante en los pacientes sero-positivos y sero-negativos hipertensos; los mayores niveles de la metaloproteinasa se encontraron en aquellos con patrón de hipertrofia ventricular concéntrica. **Mas aún, los pacientes con remodelado concéntrico tenían valores mayores que los individuos no hipertensos. (Grafico N° 2).** Al discriminar los pacientes de acuerdo con la serología y la ausencia o presencia de hipertensión, no se observó diferencia estadística entre los diferentes patrones de geometría ventricular izquierda (**Gráfico N° 3**). En otras palabras, el proceso de remodelación cardíaca, independientemente de la serología para Chagas, se acompaña de mayor expresión de la metaloproteinasa 9, en la medida en que pasa de un patrón de remodelado concéntrico a hipertrofia concéntrica. En cuanto al valor de MMP 2 (MMP 220K), no hubo diferencias significativas entre los grupos de pacientes de pacientes seropositivos y seronegativos (Tabla N° 3) (Gráfico N° 4).

El análisis de correlación entre los valores de MMP 9 y el espesor relativo ($r = 0,506$, $p < 0.01$) (**Grafico N° 5**) y la masa indexada del ventrículo izquierdo en pacientes seropositivos hipertensos ($r = 0,537$ $p = 0,006$), y en pacientes seronegativos hipertensos ($r = 0,501$, $p = 0.040$) (**Grafico N° 6**) reveló una relación significativa y

positiva. Así mismo se realizó análisis de correlación entre los valores de MMP 9 del grupo de pacientes seropositivos con y sin hipertensión arterial en función del patrón geométrico del ventrículo izquierdo observándose una correlación igualmente significativa y lineal con una r de 0,823 y una $p < 0.01$. (Gráfico N° 7).

El análisis de regresión multivariable mostró que las variables asociadas con la mayor expresión de la metaloproteinasa 9 fueron el patrón geométrico y la presencia de hipertensión arterial (Tabla N° 4). Las variables edad, sexo, índice de masa corporal y la serología positiva para Chagas no tuvieron asociación estadística con la expresión de la metaloproteinasa 9

Bdigital.ula.ve

Tabla 1. Características basales de la muestra estudiada (n=71)

CARACTERISTICAS	Serología negativa no hipertenso (n=15)	Serología negativa hipertenso (n=17)	Serología positiva hipertenso (n=25)	Serología positiva no hipertenso (n=14)	VALOR DE p
Variables Demográficas					
Edad (años)	36,33 ± 10,94	55,71 ± 12,92	59,36 ± 11,12	49,64±10,55	NS
Sexo (M/F)	2/3	2/4	11/14	9/5	NS *
M (%)	53,3	47,1	44,0	64,3	NS *
F (%)	46,7	52,9	56,0	35,7	NS *
Variables Clínicas					
TAS (mmHg)	112,33±5,20**	150,06 ± 5,95	148,36 ± 7,63	111,29 ± 7,21**	< 0,05
TAD (mmHg)	74,73 ± 9,55**	93,41 ± 3,70	93,08 ± 3,46	70,86 ± 7,29**	< 0,05
IMC	23,03 ± 2,50	22,98 ± 3,02	23,98 ± 2,60	22,23 ± 2,57	NS *
Variables Ecocardiográficas					
DDVI (cm)	4,14 ± 0,17	4,40 ± 0,29 **	4,39 ± 0,33 **	4,52 ± 0,35 **	< 0,05
ER	0,40 ± 0,012**	0,54 ± 0,04	0,50 ± 0,04	0,40 ± 0,028**	< 0,05
Masa Indexada (gr/m2)	66,84± 10,15**	110,94 ± 34,19	95,88 ± 22,52	84,39 ± 13,53**	< 0,05 *
FEVI (%)	63,20	60,64	63,41	60,72	NS*

* Entre todos los grupos.
** Entre paciente hipertensos y no hipertensos
FEVI : Función sistólica del ventrículo izquierdo. DDVI: Diámetro diastólico del VI.
Valores expresados en Media, Desviación estándar, Valores Absolutos y Porcentajes (%)

Tabla 2. Patrón Geométrico del Ventrículo izquierdo de la muestra estudiada (n=71)

CARACTERISTICAS	Serología negativa no hipertenso (n=15)	Serología negativa hipertenso (n=17)	Serología positiva hipertenso (n=25)	Serología positiva no hipertenso (n=14)	Valor de p
Patrón Geométrico del Ventrículo izquierdo					
Patrón Geométrico Normal (%)	100 *	0	0	100 *	NS
Remodelado Concéntrico (%)	0	41,2**	48,0**	0	NS
Hipertrofia concéntrica (%)	0	58,8**	52,0**	0	NS

* Entre pacientes sin hipertensión

** Entre pacientes con hipertensión

Bdigital.ula.ve

Tabla 3. Niveles de MPPS y TIMPS de la muestra estudiada (N=71)

CARACTERISTICAS	Serología negativa no hipertenso (n=15)	Serología negativa hipertenso (n=17)	Serología positiva hipertenso (n=25)	Serología positiva no hipertenso (n=14)	VALOR DE p
Metaloproteinasa					
MMP 9 (Densidad óptica)	7134,60 ± 3189,85	194695,12± 66086,05	204623,36 ± 87866,04	16587,64 ± 26565,20	< 0,05*
MMP 2 60 K (Densidad óptica)	16929,80± 30352,25	7509,59 ± 4029,79	5882,04 ± 4379,50	18860,50 ± 12232,18	NS *
MMP2 2 20 K (Densidad óptica)	5392,87 ± 4413,93	7661,59 ± 4202,92	1865,08 ± 2079,80	110194,29 ± 111855,02	NS *
TIMP 1 (Densidad óptica)	7691,20 ± 5244,83	5046,24± 2220,00	5164,12 ± 3755,57	34836,71 ± 49776,70	NS *
TIMP 2 (Densidad óptica)	6515,67± 8199,75	6733,18± 4000,60	2815,44± 2742,41	26121,71 ± 42234,05	NS *

Valores expresados en Media ± Desviación estándar y en valores absolutos
* Entre los grupos

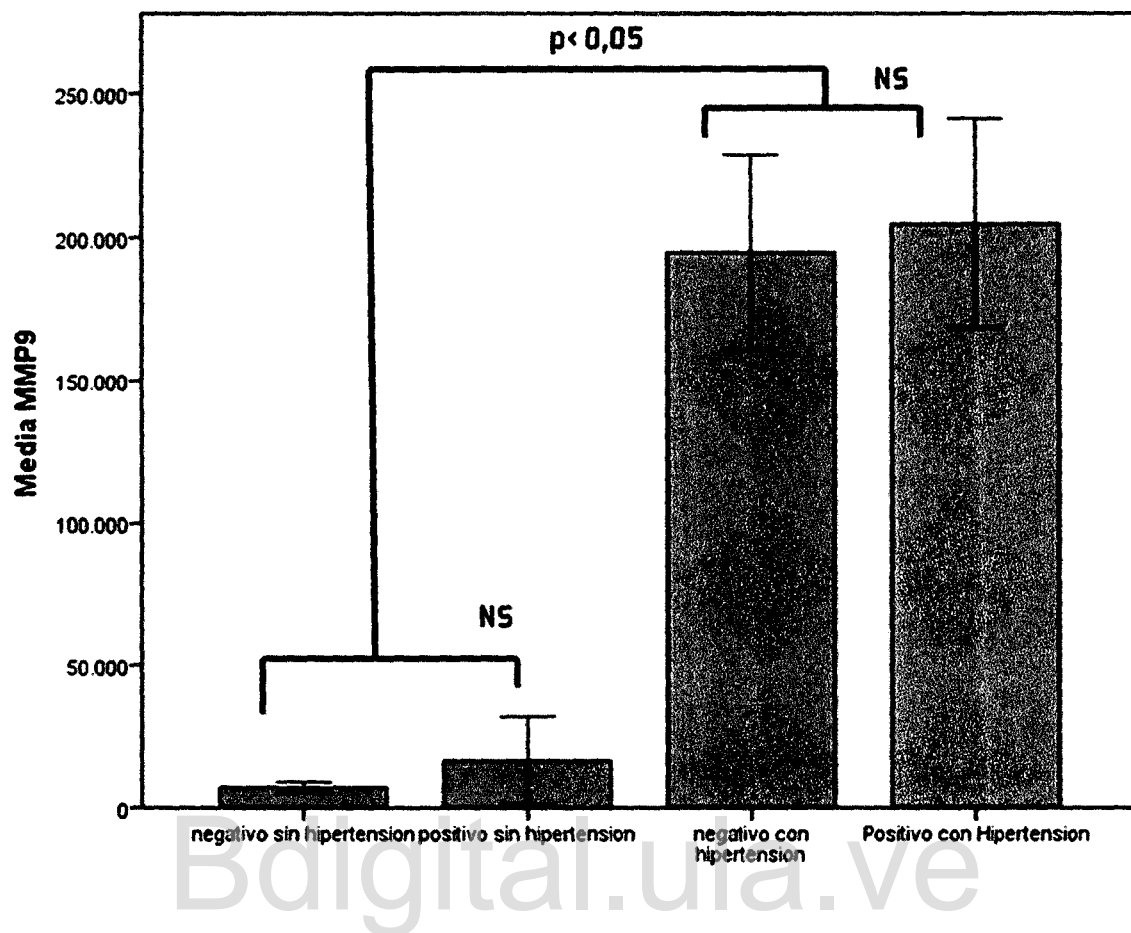


Grafico N°1. Niveles Metaloproteinasa 9 (MMP 9) según serología para Chagas y presencia de hipertensión arterial para la muestra estudiada (n= 71)

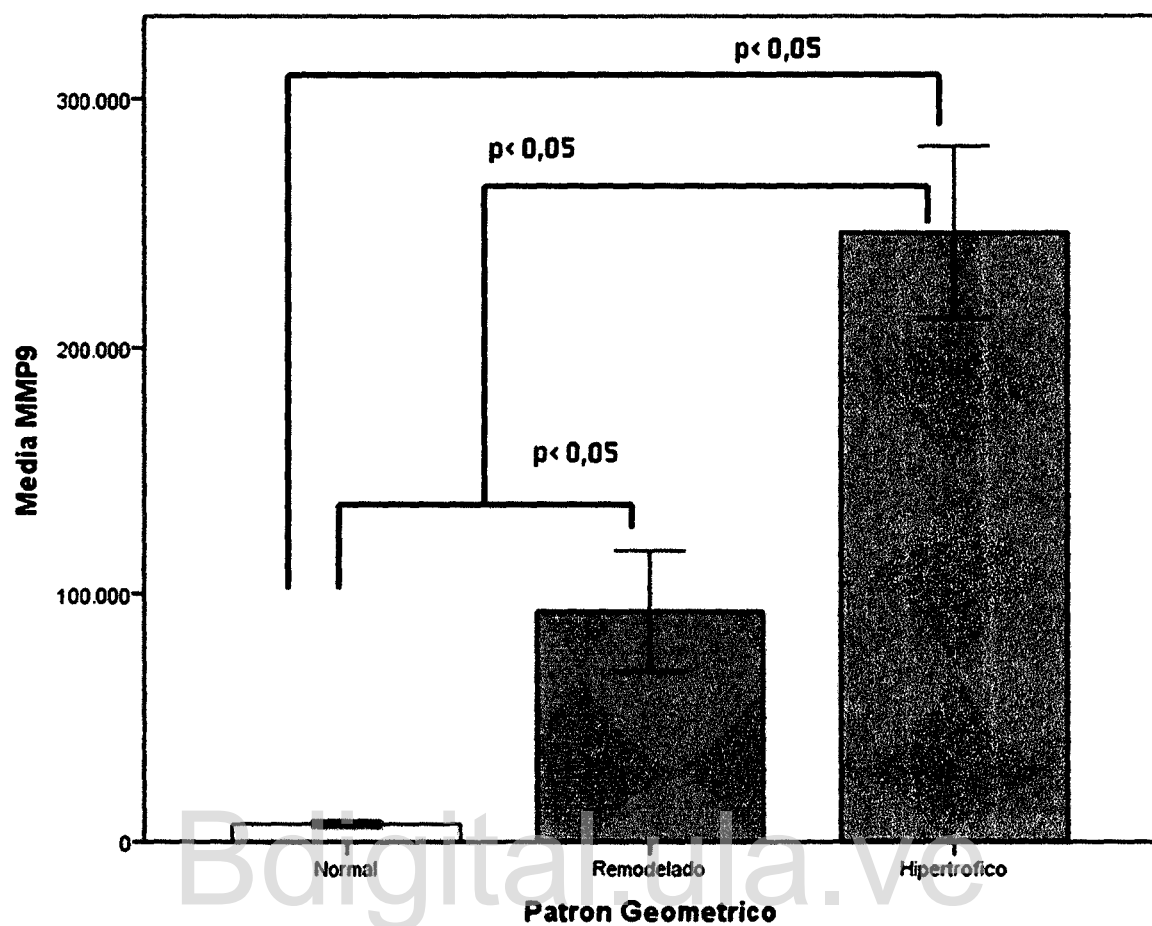


Grafico N°2. Niveles Metaloproteinasa 9 (MMP 9) según patrón geométrico de la muestra estudiada. (n= 71)

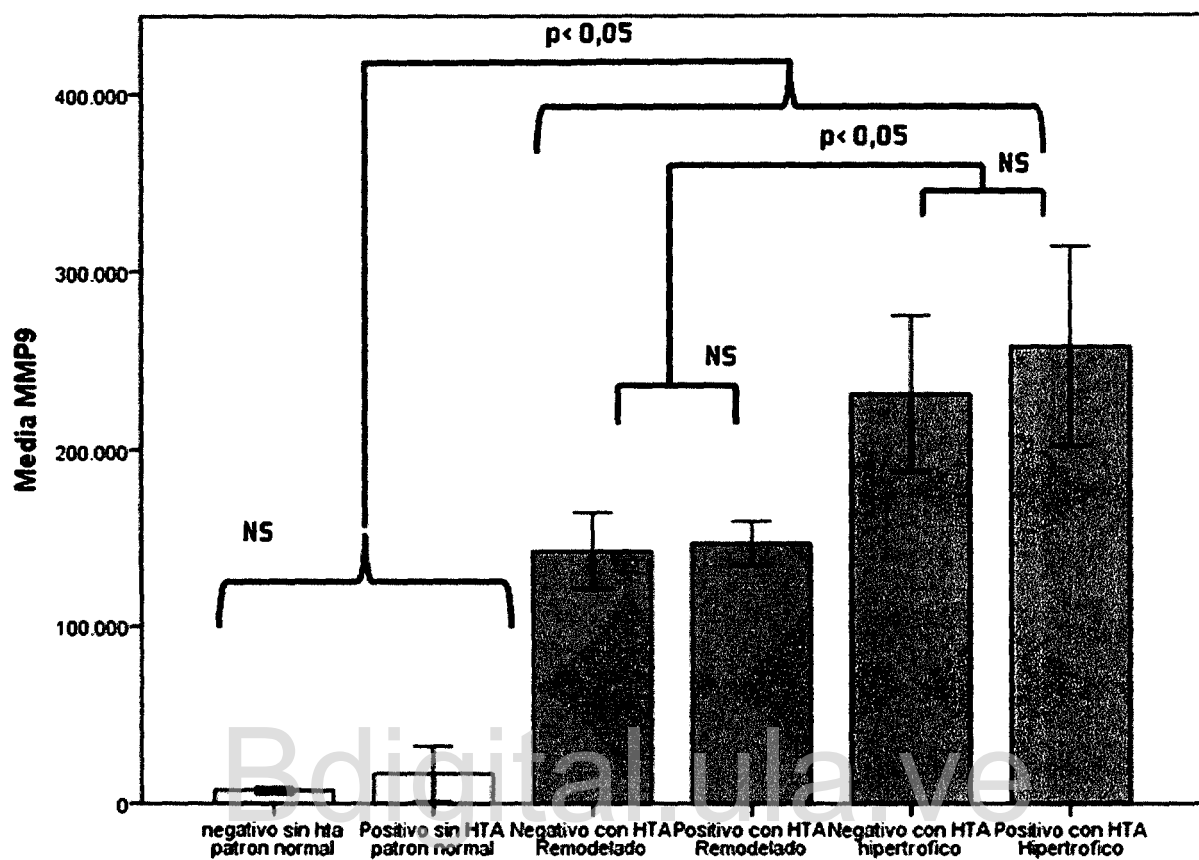


Grafico N°3. Niveles Metaloproteinasa 9 (MMP 9) según presencia de hipertensión, serología para chagas y patrón geométrico de la muestra estudiada.

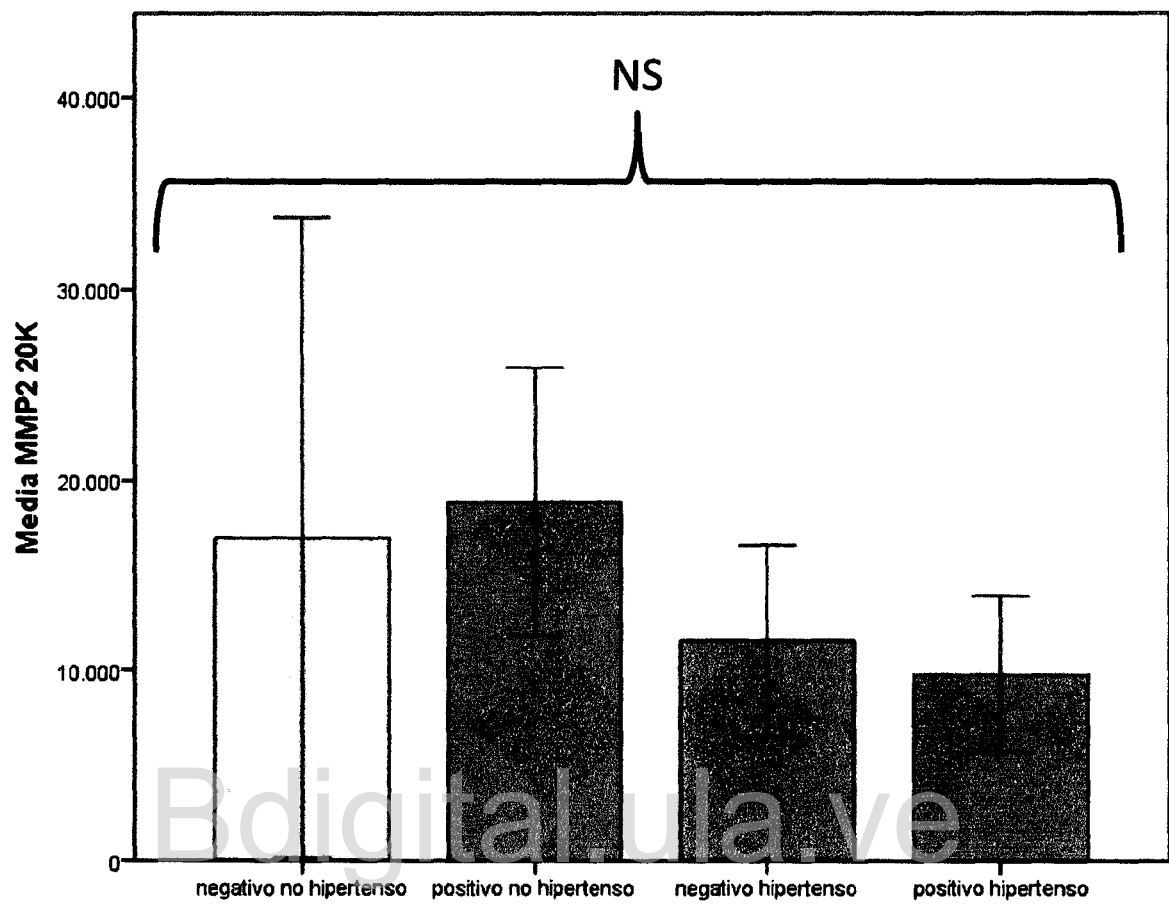


Grafico N° 4. Niveles de MMP 2 (20 K) según presencia de hipertensión arterial y serología para Chagas

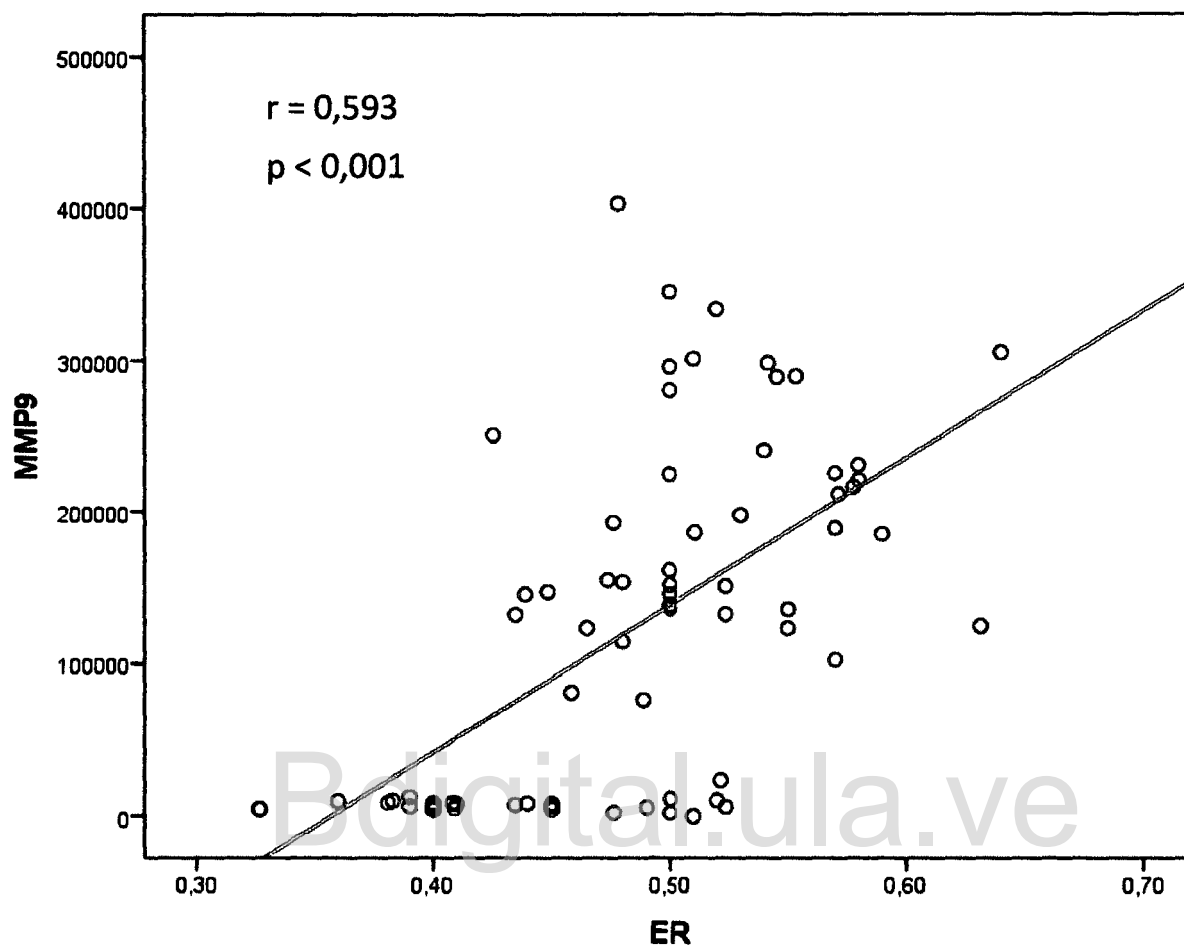
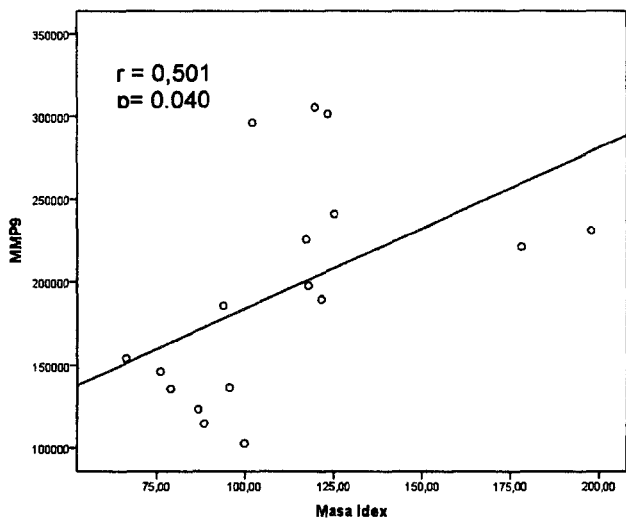
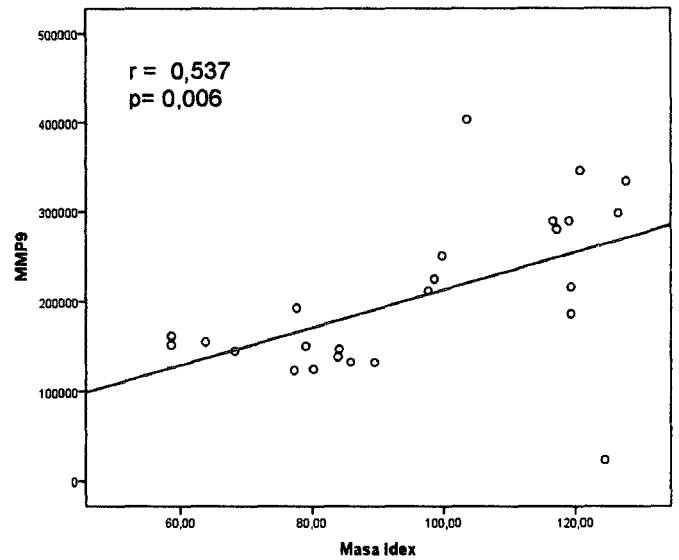


Grafico N° 5. Correlación de los niveles de MMP9 y el espesor relativo del ventrículo izquierdo de la muestra estudiada. (N=71)



Pacientes seronegativos hipertensos.



Pacientes seropositivos hipertensos.

Grafico N° 6. Correlación entre los niveles de MMP 9 y la Masa indexada del Ventrículo izquierdo en Pacientes seropositivos Hipertensos y Pacientes seronegativos Hipertensos

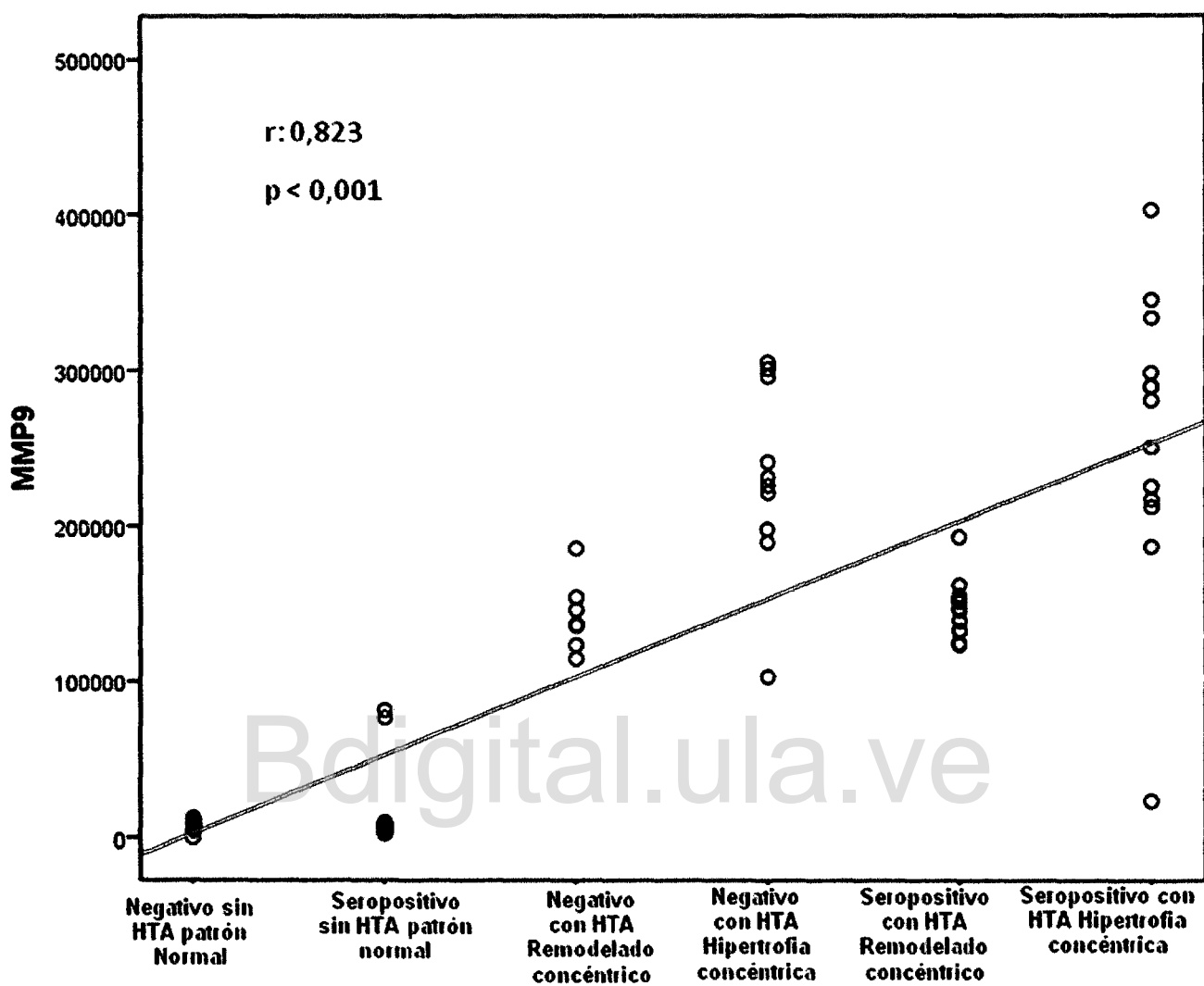


Grafico N ° 7. Correlación entre los niveles de MMP 9 y el patrón geométrico del VI en los pacientes seropositivos chagasicos en función de la presencia de Hipertensión arterial.

Tabal N° 4. Análisis de Regresión Multivariable

MMP 9		
Predictor	R ²	p
Patrón Geométrico	0,811	< 0,001
Hipertensión arterial	0,693	< 0,001

Variables incluidas en el modelo, no significativas: Serología para Chagas, edad, sexo, IMC.

DISCUSION

El propósito de esta investigación fue estudiar, mediante ecocardiografía bidimensional y técnicas de Western Blott, la repercusión anatómica y bioquímica de la hipertensión arterial sobre el corazón de pacientes chagásicos. Con este fin, se analizaron las características ecocardiográficas de pacientes chagásicos hipertensos y no hipertensos y se compararon con las de pacientes portadores de hipertensión arterial esencial y sujetos sero-negativos no hipertensos. Encontramos que el paciente chagásico hipertenso experimenta un proceso de remodelación similar al observado en los pacientes hipertensos esenciales. La presencia del patrón de remodelado concéntrico y de hipertrofia concéntrica fue semejante en los dos grupos de pacientes hipertensos sero-positivos y sero-negativos.

La repercusión bioquímica fue evaluada mediante la cuantificación en sangre periférica de las metaloproteinasas 2 y 9 y sus respectivos factores inhibidores. La expresión de la metaloproteinasa 9, encargada de la síntesis y deposición del colágeno intersticial, fue significativamente mayor en los pacientes hipertensos chagásicos y no chagásicos, en relación a los sujetos sero-positivos y sero-negativos no hipertensos. Al comparar los pacientes hipertensos entre si y los sujetos no hipertensos igualmente entre si, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. Los pacientes con hipertrofia ventricular concéntrica mostraron la mayor expresión de la metaloproteinasa 9 y ésta fue mayor que la de los pacientes con remodelado concéntrico y que la de los sujetos no hipertensos.

El análisis de correlación demostró la existencia de asociación estadística positiva, de la metaloproteinasa 9 con el espesor relativo de la pared ventricular y con la masa

cardiaca indexada. Por otra parte, el análisis de regresión múltiple indica que, las variables asociadas a la expresión de la metaloproteinasa 9, son la hipertensión arterial y el patrón geométrico. En otras palabras, los cambios morfológicos y bioquímicos observados en los pacientes hipertensos chagásicos son debidos a la sobrecarga de presión y no a la enfermedad chagásica per se. Debemos destacar, además, la ausencia de aumento en la expresión de la metaloproteinasa 2 indicativo de un franco predominio de los procesos de síntesis del colágeno vs los procesos de degradación del mismo (23,24).

Los estudios ecocardiográficos de los pacientes chagásicos, **que no son hipertensos o diabéticos**, muestran remodelación cardiaca de carácter excéntrico y alteraciones de la motilidad segmentaria. Estas últimas, se ven aproximadamente en el 20 al 40 % de los pacientes chagásicos. La baja prevalencia de estas alteraciones pudiera explicar su ausencia en nuestros pacientes chagásicos hipertensos (1-3, 9-12). De manera anecdótica podemos reportar el haber visto **un solo paciente**, no incluido en esta investigación, en el que coexistía la hipertrofia concéntrica con alteraciones de la motilidad segmentaria.

Los mecanismos responsables de la activación de las metaloproteinasas, encargadas de la degradación o síntesis del colágeno son desconocidos. Sin embargo, modelos animales de sobrecarga de volumen muestran predominio de los procesos de degradación, mientras que los modelos animales de sobrecarga de presión muestran predominio de la síntesis y deposición del colágeno (22,24).

En resumen, nuestra investigación clínica y transversal documenta, **por primera vez**, la repercusión morfológica y bioquímica de la hipertensión arterial sobre el corazón

del paciente chagásicos. Nuestros resultados indican que el proceso de remodelación cardíaca de estos pacientes es semejante al observado en los pacientes hipertensos esenciales. El marcado aumento en la expresión de la metaloproteinasa 9 y no de la metaloproteinasa 2 sugiere un predominio de los procesos de síntesis del colágeno sobre los procesos de degradación. Esto último y la ausencia de alteraciones de la motilidad segmentaria del ventrículo izquierdo explicarían porque estos pacientes se remodelan de manera concéntrica y no excéntrica.

Bdigital.ula.ve

LIMITACIONES

El número de pacientes en nuestro protocolo es reducido y la heterogeneidad de la muestra.

Sin embargo, los resultados son congruentes.

Bdigital.ula.ve

CONCLUSIONES

1. El paciente chagásico con hipertensión arterial sufre los mismos cambios de remodelación de la geometría del ventrículo izquierdo al igual que el paciente hipertenso no chagásico.
2. Los marcadores bioquímicos del colágeno intersticial, de pacientes chagásicos con hipertrofia ventricular concéntrica e hipertensión arterial son semejantes a los observados en pacientes no chagásicos hipertensos.
3. Los predictores de aumento de los marcadores del colágeno intersticial (MMP9), son el patrón geométrico del VI y la presencia de HTA.

BIBLIOGRAFIA

1. Davila DF. The presence of *Tripanosoma cruzi* antigenic deposits. American Journal of Tropical Medicine & Hygiene 62: 325, 2000.
2. Davila DF, Rossel O, Bellabarba G. Pathogenesis of chronic chagas heart disease: parasite persistence and autoimmune responses versus cardiac remodelling and neurohormonal activation. International Journal for Parasitology . 32(1):107-9, 2002.
3. Davila DF, Donis JH, Ferrer JA, Torres A. A modified and unifying neurogenic hypothesis can explain the natural history of chronic chagas heart disease. International Journal of Cardiology 96: 191, 2004.
4. Davila DF. Sympathetic nervous system activation in chagasic patients with congestive heart failure. Journal of the American College of Cardiology 43:1723, 2004.
5. Dávila DF, Santiago JJ, Odreman RA. Vagal dysfunction and the pathogenesis of chronic chagas disease. International Journal of Cardiology 100:337, 2005.
6. Dávila DF, Donis JH, Davila LA, Odreman WA, Arata de Bellabarba G, Villarroel VM. Anti-muscarinic autoantibodies and vagal modulation in chagas disease: Positive allosteric modulators vs Desensitization and downregulation of M2 cardiac acetylcholine receptors. International Journal of Cardiology 123:328-329, 2008.
7. Dávila DF, Donis JH, Torres A, Gottberg CF, Ramoni-Perazzi P, Arata de Bellabarba G. Beta-adrenergic blockers in chronic systolic heart failure secondary to Chagas' disease. International Journal of Cardiology. 128(1):1-4, 2008.

8. Das Neves B, Bacilio ML, Berrueta L, Salem S, Peterson DL, Donis JH, Nuñez TJ, Davila DF. Muscarinic antibodies and cardiac chronotropic responses in the indeterminate and arrhythmic stages of Chagas' disease (Enviado a publicación).
9. Acquatella H. Echocardiography in Chagas Heart Disease. *Circulation* 2007;115:1124-1131.
10. Bonney KM, Engman DM. Chagas heart disease pathogenesis: one mechanism or many?. *CurrMol Med* 2008;8:510-518.
11. Kierszenbaum F. Mechanisms of pathogenesis in Chagas disease. *Acta Parasitol* 2007; 52:1-12.
12. Marin-Neto JA, Cunha-Neto E, Maciel BC, Simoes MV. Pathogenesis of chronic chagas disease. *Circulation* 2007;115: 1109-1123.
13. Rassi A Jr., Rassi A, Rasi SG. Predictors of mortality in Chronic Chagas Disease. A systematic review of observational studies. *Circulation* 2007;115: 1101-1108.
14. Teixeira AR, Hecht MM, Guimaro MC, Sousa AO, Nitz N. Pathogenesis of chagas' disease: parasite persistence and autoimmunity. *Clinical Microbiology Reviews* 2011; 24:592- 630.
15. Añez N, Crisante G, Rojas A. Update on Chagas disease in Venezuela--a review. *MemInstOswaldo Cruz*.2004; 99:781-787.
16. Issa VS, Amaral AF, Cruz FD, Ferreira SM, Guimarães GV, Chizzola PR, Souza GE, Bacal F, Bocchi EA. Beta-blocker therapy and mortality of patients with Chagas cardiomyopathy: a subanalysis of the REMADHE prospective trial. *Circ Heart Fail*. 2010 ;3:82-88.

17. E. Udelson, Marvin A. Konstam MA, Daniel G. Kramer DG, Patel AR, Maron MS, and Udelson JE. Left Ventricular Remodeling in Heart Failure: Current Concepts in Clinical Significance and Assessment. *J Am Coll of Cardiol* 2011;4:98-108
18. Talvani A, Rocha MO, Ribeiro AL, Borda E, Sterin-Borda L, Teixeira MM. Levels of anti-M₂ and anti-β₁ autoantibodies do not correlate with the degree of heart dysfunction in Chagas' heart disease. *Microbes Infect* 2006; 8:2459-2464.
19. Bertanha L, Guariento ME, Magna LA, Almeida EA. Clinical and laboratory characterization of hypertensive Chagas disease patients without evident heart failure. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2008 ;41:163-168.
20. Gurgel CB, Almeida EA. Frequency of hypertension in patients with chronic Chagas disease and its consequences on the heart: a clinical and pathological study. *Arq Bras Cardiol*. 2007 ;89:174-182.
21. de Angelis Alves RM, Thomaz RP, de Almeida EA, da Silva Wanderley J and Guariento ME. Chagas' disease and ageing: the coexistence of other chronic diseases with Chagas' disease in elderly patients. *Rev Soc Bras Med Trop* 2009;42:622-628.
22. de Almeida EA, Barbosa Neto RM, Guariento ME, Wanderley Jda S, de Souza ML. Clinical presentation of chronic Chagas disease in elderly individuals. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2007 ;40:311-315.
23. Marcos A. Rossi. Connective tissue skeleton in the normal left ventricle and in hypertensive left ventricular hypertrophy and chronic chagasic myocarditis. *Med Sci Monit*, 2001; 7: 820-832
24. Spinale FG. Myocardial matrix remodelling and the matrix metalloproteinases: Influence on cardiac form and function. *Physiology Review* 2007;87:1285-1290.

25. Spinale FG. Matrix metalloproteinases: regulation and dysregulation in the failing heart. *Circ Res.*2002 ;90:520-530
26. Ahmed SH, Clark LL, Pennington WR, Webb CS, Bonnema DD, Leonardi AH, McClure CD, Spinale FG, Zile MR. Matrix metalloproteinases/tissue inhibitors of metalloproteinases: relationship between changes in proteolytic determinants of matrix composition and structural, functional, and clinical manifestations of hypertensive heart disease. *Circulation.*2006 ;113:2089-2096.
27. López B, González A, Querejeta R, Larman M, DíezJ. Alterations in the pattern of collagen deposition may contribute to the deterioration of systolic function in hypertensive patients with heart failure. *J Am Coll Cardiol.*2006 ;48:89-96.
28. Chapman RE, SpinaleFG.Extracellular protease activation and unraveling of the myocardial interstitium: critical steps toward clinical applications. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.*2004 J286:H1-H10.
29. du Cailar G, Pasquie JL, Ribstein J, Mimran A. Left ventricular adaptation to hypertension and plasma renin activity. *J Human Hypert* 2000;14: 181-188.
30. Yingxin P, Jiang S, Xiaoyong Q, Hao X, Chunli R, Dongmei Y, Zhiqin G, Shilling Z, Min W. Regulation of the catecholamine β -Adrenergic system in ventricular remodeling of hypertension.*Jpn Heart J* 2004; 45:285-296.
31. Benedict CR, Weiner DH, Johnstone DE, Bourassa MG, Ghali JK, Nicklas J, Kirilin P, Greenberg B, Quinones MA, Yusuf S. Comparative neurohormonal responses

in patients with preserved and impaired left ventricular ejection fraction: results of the Studies of Left Ventricular Dysfunction (SOLVD) Registry. The SOLVD Investigators. J Am Coll Cardiol. 1993 ;22(4 Suppl A):146A-153A.

32. Ries, C. Egea V. MMP-2, MT1-MMP, and TIMP-2 are essential for the invasive capacity of human mesenchymal stem cells: differential regulation by inflammatory cytokines. Blood, 1 MAY 2007 VOL 109, N 9.
33. Komosinska-Vassev K, Olczyk P. Age- and Gender-Dependent changes in Connective Tissue Remodeling: Physiological Differences in circulating MMP-3, MMP-10, TIMP-1 and TIMP-2 Level. Gerontology 2011;57:44–52.

Bdigital.ula.ve

CONSENTIMIENTO VÁLIDO INFORMADO

En el Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes se está realizando el proyecto de investigación titulado **MARCADORES DEL COLAGENO INTERSTICIAL EN PACIENTES CHAGASICOS CON GEOMETRÍA VENTRICULAR NORMAL O HIPERTROFIA VENTRICULAR CONCENTRICA, EN PRESENCIA DE CO-MORBILIDADES.**

Yo, _____ C.I. _____

Nacionalidad _____ Estado Civil, _____

siendo mayor de 18 años, en uso pleno de mis facultades mentales y sin que medie coacción ni violencia alguna, en completo conocimiento de la naturaleza, duración, propósito, inconvenientes y riesgos relacionados con el estudio que mas abajo indico, declaro mediante la presente:

1.-Haber sido informado de manera objetiva, clara y sencilla, de todos los aspectos relacionados al proyecto de Investigación titulado **MARCADORES DEL COLAGENO INTERSTICIAL EN PACIENTES CHAGASICOS CON GEOMETRÍA VENTRICULAR NORMAL O HIPERTROFIA VENTRICULAR CONCENTRICA, EN PRESENCIA DE CO-MORBILIDADES.**

2.-Tener conocimiento claro de que el objetivo del trabajo antes señalado es:

Determinar el patrón de expresión de las metaloproteinasas y el inhibidor de las metaloproteinasas en pacientes Chagásicos con comorbilidad.

3.-Conocer bien el protocolo expuesto por el investigador, en el cual se establece que mi participación en el trabajo consiste en:

3.1.-Se me realizará interrogatorio sobre antecedentes de enfermedades personales y en mi familia; además examen físico que incluirá las mediciones antropométricas.

3.2.-Me será medido los niveles de metaloproteinasas y sus inhibidores y otros parámetros cardiovasculares (masa de ventrículo izquierdo, función diastólica del ventrículo izquierdo, fracción de eyección y volumen de la aurícula izquierda) a través de un estudio ecocardiográfico transtorácico estándar.

3.3.-Debo donar al Laboratorio de inmunología una muestra de sangre de 10 cc, la cual se me extraerá mediante punción venosa, previa asepsia y antisepsia de la región anterior del antebrazo por una persona capacitada y autorizada por el referido laboratorio.

4.-Que mi participación en dicho estudio no implica riesgo ni inconveniente alguno para mi salud, mas bien será beneficioso.

5.-Que cualquier pregunta que yo tenga en relación con este estudio, me será respondida oportunamente por parte del responsable de la investigación: Dr. Gabriel Lopez, Telf 04148775521, Residente del Postgrado de Cardiología del IAHULA, quien usará la información obtenida para cumplir con su Trabajo Especial de Grado, o por la Tutora de la investigación: Dr. Diego Davila, Adjunto del Servicio de Cardiología, Profesor Titular de la Universidad de Los Andes.

DECLARACIÓN DEL VOLUNTARIO:

Luego de haber leído, comprendido y recibido las respuestas a mis preguntas con respecto a este formato de consentimiento:

A.- Acepto las condiciones estipuladas en el mismo y a la vez autorizo al equipo de investigadores a realizar las evaluaciones ya descritas. Me comprometo a colaborar con el cumplimiento de las indicaciones.

B.-Me Reservo el derecho de revocar esta autorización y donación en cualquier momento sin que conlleve algún tipo de consecuencia negativa para mí.

Nombre: _____ C.I. _____
Fecha _____ Lugar _____ Firma: _____

DECLARACIÓN DEL INVESTIGADOR:

Luego de haber explicado detalladamente al Sr(a). _____, la naturaleza del proyecto mencionado, certifico mediante la presente que, a mi leal saber, el sujeto que firma este formulario de consentimiento comprende la naturaleza, requerimientos, riesgos y beneficios de la participación en este estudio.

Por el Equipo de Investigación:

Responsable: Dr. Gabriel Lopez , CI: 16220875. Firma: _____

Tutor: Dr. Diego Davila. Firma: _____

Lugar y Fecha: _____