

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

**ESTRATEGIAS DE TRATAMIENTO DEL PACIENTE CON INSUFICIENCIA
CARDIACA SISTOLICA AGUDAMENTE DESCOMPENSADA: EFECTOS DEL
CARVEDILOL VERSUS DOSIS FRECUENTES DE FUROSEMIDA SOBRE LAS
METALOPROTEINASAS SÉRICAS MMP2 Y MMP9**

AUTOR: Dr. Ibsen Alberto Ramírez Nava.

TUTOR:

Dr. Diego F. Dávila Spinetti

TUTOR METODOLÓGICO:

Dr. Jose H. Donis H.

ASESORES:

Dra. Siham Salmen.

COLABORADORES:

Dra. Petain Peña

Dra Brenda Angel

Dr. Luis Moreno

Dr. Christian Castillo

MÉRIDA, VENEZUELA

2013

**ESTRATEGIAS DE TRATAMIENTO DEL PACIENTE CON INSUFICIENCIA
CARDIACA SISTOLICA AGUDAMENTE DESCOMPENSADA: EFECTOS DEL
CARVEDILOL VERSUS DOSIS FRECUENTES DE FUROSEMIDA SOBRE LAS
METALOPROTEINASAS SÉRICAS MMP2 Y MMP9**

www.bdigital.ula.ve

**TRABAJO ESPECIAL DE GRADO PRESENTADO POR EL MÉDICO
CIRUJANO IBSEN ALBERTO RAMIREZ NAVA, CI: 15756530, 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 CARDIOLOGIA CLINICA**

AUTOR: Dr. Ibsen Alberto Ramírez Nava

Médico Internista. 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

Médico Internista y Cardiólogo. Doctor en Filosofía, Ph.D. Mención Fisiología Cardiovascular. Investigador ONTIC-PEII-B. Programa de Estímulo a la Innovación y 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

Profesor Titular e Investigador ONTIC-PEII-A. Programa de Estímulo a la Innovación y a la Investigación. Ministerio de Ciencia y Tecnología. 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. ULA. Investigador ONTIC-PEII-B. Programa de Estímulo a la Innovación y a la Investigación. Ministerio de Ciencia y Tecnología

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. Investigador ONTIC nivel B.

COLABORADORES:

Lcda. Vanessa Villarroel, Departamento de Fisiopatología de La Universidad de los Andes. Mérida-Venezuela. Investigador ONTIC nivel B.

Dra. Lisette Aranguibel: Médico cardiólogo. Adjunto del Instituto de Investigaciones Cardiovasculares - ULA. Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes (IAHULA) Mérida – Venezuela.

Dr. Gabriel López: Médico cardiólogo. Adjunto del Instituto de Investigaciones Cardiovasculares - ULA. Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes (IAHULA) Mérida – Venezuela.

Lic Rosalia Gumina. Directora de la Biblioteca, IAHULA

Dra. Petain Peña. Residente III del postgrado de Cardiología de la Universidad de los Andes
Dra. Brenda Ángel. Residente III del postgrado de Cardiología de la Universidad de los Andes
Dr. Luis Moreno. Residente III del postgrado de Cardiología de la Universidad de los Andes
Dr. Christian Castillo. Residente III del postgrado de Cardiología de la Universidad de los Andes

www.bdigital.ula.ve

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar al Dios Todopoderoso y mi familia, en especial a mi esposa por su incondicional ayuda, paciencia, amor y apoyo durante todo este tiempo a mi lado, a mi hija que con su sonrisa, cariño y amor, me dio las fuerzas cuando más lo necesitaba. Mis padres Elsy e Ibsen, que por sus enseñanzas y consejos durante los momentos difíciles lograron en mí, superar los obstáculos de manera exitosa, mis hermanos Daniel, Ilich e Ilber por su compañía y apoyo durante este tiempo.

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

Gracias a mis compañeros de trabajo, en especial a Petaín, Brenda, Christian y Luis, puesto que sin su ayuda, habría sido imposible la consecución de este manuscrito.

Gracias, a mis tutores, los doctores Diego Dávila Spinetti y José Donís. Por su colaboración, paciencia y dedicación.

Un especial agradecimiento al personal de la Biblioteca del IAHULA, en especial a mi amiga Rosalia Gumina, que se comporto como una Madre junto a la Sra Sarina Fadallelo durante estos tres años de travesía de mi postgrado

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

ÍNDICE

	Páginas
Agradecimientos.....	5
Resumen.....	7
Introducción.....	9
Metodología.....	11
Hipótesis.....	11
Objetivos.....	11
Diseño del Estudio.....	11
Población y Muestras.....	12
Criterios de Inclusión.....	12
Criterios de Exclusión.....	13
Procedimiento.....	14
Exámenes especiales.....	15
Determinación de variables ecocardiográficas.....	15
Determinación de Metaloproteinasa.....	16
Análisis Estadísticos.....	17
Resultados.....	18
Discusión.....	30
Limitaciones.....	34
Conclusiones.....	35
Referencias.....	36

RESUMEN

ANTECEDENTES: El tratamiento convencional para los pacientes con insuficiencia cardíaca crónica agudamente descompensada (ICCAD), es la administración de dosis altas y frecuentes de diuréticos intravenosos para la compensación, mediante la reducción de los líquidos corporales. Esto se relaciona con incremento de la mortalidad intra y extrahospitalaria. Los bloqueadores beta-adrenérgicos (BB) son drogas que han logrado disminuir la morbimortalidad, por reducción de la activación neurohormonal. Las Guías de tratamiento actuales, no proponen un BB en particular para la ICCAD, Sin embargo, carvedilol, ha demostrado que reduce significativamente la mortalidad por todas las causas y eventos cardiovascular (CV) (accidente cerebrovascular no fatal y fatal e infarto de miocardio) en comparación con metoprolol en pacientes con insuficiencia cardíaca (COMET). En los pacientes con ICCAD, la metaloproteinasa 2 (MMP2) se encuentra elevada y se relaciona con deterioro de la función ventricular, con el grado de activación neurohormonal y con la clase funcional. Se determinara los valores séricos de MMP 2 y 9 y su relación con la compensación de la ICCAD. **MÉTODOS:** En un ensayo clínico prospectivo, abierto, los adultos elegibles con ICCAD, fueron asignados de manera no aleatorizada a recibir tratamiento constituido por dosis frecuentes de furosemida y otro basado en la administración de carvedilol y una dosis de furosemida. El objetivo fue determinar el comportamiento de las variables clínicas y los niveles séricos de MMP2 y MMP9 en las 96 horas posteriores al inicio de cualquiera de las dos estrategias. **RESULTADOS:** Se incluyeron 13 pacientes. Siete asignados al grupo furosemida y 6 asignados al grupo Carvedilol. La reducción del peso y de la FC fue igualmente significativa en ambos grupos, a predominio de Carvedilol. Además mejoría de la clase funcional con ambos protocolos, que se consideró significativa. Hubo reducción no significativa de MMP 2 y 9, con ambas estrategias a las 96 horas de tratamiento. **CONCLUSIONES:** En pacientes con ICCAD, la administración de Carvedilol y una dosis de furosemida permiten la compensación en las primeras 96 horas. Hubo Reducción no significativa de los niveles séricos de Metaloproteinasas 2 y 9 con ambas estrategias. **Palabras clave:** insuficiencia cardíaca crónica agudamente descompensada, metaloproteinasas, carvedilol.

ABSTRACT

BACKGROUND: The standard treatment for patients with acutely decompensated chronic heart failure (ICCAD), is the frequent administration of high doses of diuretics intravenous for compensation, by reducing body fluids. This is related to increased intra-hospital and mortality. Beta-blockers (BB) are drugs that have succeeded in reducing morbidity and mortality by reducing neurohormonal activation. Current guidelines do not propose a particular BB for ICCAD however, carvedilol has been shown to significantly reduce mortality from all causes and cardiovascular events (CV) (fatal and nonfatal stroke and myocardial infarction) compared with metoprolol in patients with heart failure (COMET). In patients with ICCAD, metalloproteinase 2 (MMP2) is elevated and is associated with impaired ventricular function, with the degree of neurohormonal activation and functional class. Serum MMP 2 and 9 were determined and their relationship to compensation ICCAD. **METHODS:** In a prospective, open clinical trial, eligible adults ICCAD were nonrandomly assigned to receive treatment consisting of frequent doses of furosemide and another based on the administration of a dose of carvedilol and furosemide. The objective was to determine the behavior of clinical variables and after the onset of either serum MMP2 strategies and MMP9en 96 hours. **RESULTS:** 13 patients were included. Seven assigned to furosemide group and 6 assigned to carvedilol group. Weight reduction and FC was also significant in both groups, predominantly of Carvedilol. Further improvement in functional class with both protocols, which was considered significant. There was no significant reduction in MMP 2 and 9, with both strategies after 96 hours of treatment. **CONCLUSIONS:** In patients with ICCAD, administration of carvedilol and furosemide dose allow for compensation within 96 hours. Occurs no significant serum levels of metalloproteinases 2 and 9 in both reduction strategies.

Keywords: acutely decompensated chronic heart failure, metalloproteinases, carvedilol.

INTRODUCCIÓN

La historia natural del paciente con insuficiencia cardiaca sistólica crónica se caracteriza, entre otros, por la recurrencia de los síntomas y signos de congestión sistémica y pulmonar. Los factores responsables de esta particular evolución son: No adherencia al tratamiento, arritmias cardiacas, infarto del miocardio e infecciones respiratorias (1). La importancia de la recurrencia de los síntomas congestivos radica, no solamente en la ocupación de camas hospitalarias e incremento de costos por tratamiento, sino también en el aumento de la morbi-mortalidad en los tres meses posteriores al egreso (2).

Características clínico-epidemiológicas de la descompensación aguda recurrente.

En la gran mayoría de estos pacientes están presentes los síntomas y signos de congestión periférica y central. En otras palabras, hay evidencia de retención hidrosalina con el consiguiente aumento de la presión intraventricular izquierda. La evaluación clínica de estos pacientes, al ingreso, permite conocer de manera indirecta el patrón o perfil hemodinámico del paciente. La presencia de intolerancia al decúbito supino, ingurgitación yugular a los 45° y la temperatura corporal expresada por normotermia o hipotermia de las extremidades, permite clasificar al paciente como predominantemente **congestivo** (Presión precapilar elevada e hipervolemia) o predominantemente con **hipoperfusión tisular** (Gasto cardiaco bajo) (3-6). La rapidez en la instalación de los síntomas y los niveles de presión arterial sistólica al ingreso, son predictores confiables del substratum anatómico-funcional subyacente (Disfunción sistólica vs Disfunción diastólica). La instalación de manera gradual, (Días a semanas) de los síntomas congestivos y presiones sistólicas iguales o menores a 120 mmHg, sugieren la presencia de insuficiencia cardiaca sistólica. Por el contrario, la instalación de los síntomas en menos de 24 horas, asociada a niveles de presión sistólica superiores a 120 mmHg, se corresponden más con la insuficiencia cardiaca diastólica (7).

El tratamiento convencional para los primeros, considerados como fundamentalmente hipervolémicos, es la administración de altas y frecuentes dosis de diuréticos intravenosos para aumentar la excreción de sal y agua, con la intención de lograr la compensación a través de la disminución de los líquidos corporales (8,9). Estas guías terapéuticas son, en la actualidad, las normas vigentes en nuestro medio, en Europa y Norteamérica. Sin

embargo, en la mayoría de los estudios recientes, la aplicación universal de esta estrategia ha incrementado la mortalidad intrahospitalaria y extrahospitalaria a los 30-90 días post hospitalización (10-13). Las únicas estrategias terapéuticas que han logrado disminuir la morbi-mortalidad y mejorar la calidad de vida de los pacientes con insuficiencia cardíaca sistólica crónica, son aquellas dirigidas a contrarrestar la activación neurohormonal. Estas estrategias se fundamentan en el uso de bloqueadores neurohormonales, en particular bloqueadores-beta adrenérgicos. Si bien es cierto que, **la administración de estos medicamentos requiere la condición de euvolemia en los pacientes agudamente descompensados (9,14)**; estudios recientemente concluidos, que evaluaron los beneficios y tolerancia de su administración intrahospitalaria a pacientes aún hipervolémicos, demostraron una menor morbi-mortalidad intra y extra-hospitalaria (15,16).

Por todo lo anteriormente expuesto, en nuestra institución hemos comparado la estrategia convencional, fundamentada en altas y frecuentes dosis de diuréticos intravenosos, versus la titulación cautelosa y ascendente del bloqueador beta-adrenérgico carvedilol, más una dosis única de furosemida intravenosa (17-21). Encontramos que, con la segunda estrategia, es posible compensar al paciente (Mejoría de la clase funcional y reducción importante del peso seco), disminuir la activación neurohormonal, modificar favorablemente la frecuencia de arritmias ventriculares potencialmente letales (17), e incrementar la sobrevida a largo plazo (22). Los mecanismos responsables de estos favorables efectos son desconocidos.

En pacientes con insuficiencia cardíaca sistólica, la degradación del colágeno intersticial juega un papel fundamental en la progresión del proceso de remodelación ventricular (23,24). Por el contrario, en la insuficiencia cardíaca diastólica, la síntesis y el contenido de colágeno intersticial están aumentados por la acción de la metaloproteinasa MMP-9 (25-27). La administración de furosemida, a través de la enzima lisil-oxidasa, incrementa estos últimos procesos metabólicos (28,29). En los pacientes con insuficiencia cardíaca sistólica agudamente descompensada, la metaloproteinasa 2 (MMP-2) se encuentra elevada y se relaciona con el compromiso de la función ventricular, con el grado de activación neurohormonal y con la clase funcional (30, 31,32). Por consiguiente, en esta investigación nos proponemos estudiar el efecto de frecuentes y altas dosis de furosemida versus carvedilol, en pacientes agudamente descompensados, sobre los niveles séricos de las metaloproteinasas 2 y 9 (MMP2 y MMP9).

METODOLOGIA

HIPOTESIS

La compensación del paciente con carvedilol reduce en mayor grado los niveles séricos de la MMP2, comparados con los pacientes que reciben dosis frecuentes de diuréticos. Los niveles de MMP9 aumentarían con este último tratamiento.

OBJETIVOS

1. Determinar los valores séricos de las metaloproteinasas MMP2 y MMP9 en pacientes con insuficiencia cardíaca agudamente descompensada.
2. Evaluar los efectos de dos estrategias terapéuticas contrapuestas sobre los niveles séricos de metaloproteinasas.

DISEÑO DEL ESTUDIO

Se utilizará un ensayo clínico prospectivo, no aleatorizado y abierto en el Instituto de Investigaciones Cardiovasculares del Hospital Universitario de Los Andes entre septiembre 2012 y octubre 2013.

POBLACIÓN A ESTUDIAR

Pacientes ingresados a la sala de emergencia del Hospital Universitario de Los Andes con el diagnóstico de insuficiencia cardiaca agudamente descompensada en clases funcionales III-IV (NYHA). Se realizara un seguimiento estimado promedio de 96 horas. El diagnóstico se confirmara de acuerdo con los siguientes parámetros:

- 1.- Historia clínica.
- 2.- Radiografía de tórax P_A.
- 3.- Electrocardiograma de superficie de 12 derivaciones.
- 4.- Exámenes de laboratorio de rutina.
- 5.- Ecocardiograma bidimensional.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

1.- Pacientes de ambos sexos mayores de 18 años con el diagnóstico de insuficiencia cardiaca crónica de diferentes etiologías que tengan dos o mas de los siguientes criterios mayores o dos criterios menores y un criterio mayor:

<u>CRITERIOS MAYORES</u>	<u>CRITERIOS MENORES</u>
Disnea paroxística nocturna	Disnea de esfuerzo
Cardiomegalia	Tos nocturna
Galope ventricular	Taquicardia sinusal
Ingurgitación yugular	Edema periférico
Reflujo hepato-yugular presente	Hepatomegalia
Estertores crepitantes finos bilaterales	Derrama pleural

Disminución de > 5 Kg de peso durante el tratamiento.

- 2.- Clase funcional NYHA III-IV
- 3.- Disfunción ventricular sistólica izquierda $FE < 35 \%$.
- 4.- Presión arterial sistólica > 90 mm HG.
- 5.- Categoría B (Clasificación clínico-hemodinámica Boston (“Caliente y Húmedo”) (6).
- 6.- Pacientes con o sin tratamiento convencional (Digitálicos, diuréticos, IECA).
- 7.- Consentimiento informado por escrito para la participación en el estudio.
- 8.- Se considera que un paciente crónico está descompensado cuando refiera reaparición o acentuación gradual (días o semanas) de los síntomas y signos de insuficiencia cardíaca.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

1. Enfermedad hepática-Renal-Endocrina o neoplásica coexistente.
2. Síndromes coronarios agudos
3. Edema agudo del pulmón
4. Enfermedades cardíacas valvulares severas (Estenosis aórtica y mitral).
5. Hipotensión arterial sistólica (< 90 mm Hg)
6. Bradicardia severa
7. Enfermedad pulmonar obstructiva crónica
8. Pacientes que reciban drogas que interfieran con la función autonómica.
9. Pacientes que se nieguen a participar en el estudio.

PROCEDIMIENTO

En aquellos pacientes que cumplan los criterios de inclusión y acepten participar en el estudio se procederá de la siguiente manera:

Los pacientes serán asignados de manera consecutiva a una u otra de las estrategias terapéuticas y serán hospitalizados en la unidad de cuidados coronarios del IAHULA durante por un lapso no menor de 96 horas.

GRUPO I

- Digitalización en 24 horas (0.25 mg VO cada 8 horas por tres dosis). Dosis de mantenimiento 0.125 mg VO OD
- Furosemida 20 mg IV cada 8 horas.
- Captopril 6.25 mg cada 8 horas.
- Enoxaparina 40 mg s/c OD

Pacientes con indicación médica para anticoagulación se les administrará heparina de bajo peso molecular a dosis de 1 mg/kg BID más warfarina sódica 5mg VO OD hasta alcanzar INR entre 2-3. A partir de este momento se continuará solamente con la warfarina sódica.

GRUPO II

- Digitalización en 24 horas (0.25 mg VO cada 8 horas por tres dosis).
- Dosis de mantenimiento 0.125 mg VO OD
- Furosemida: 20 mg IV cada 24 horas.
- Enoxaparina 40 mg s/c OD
- Carvedilol: 3.125 mg VO BID Se duplicará diariamente una o ambas dosis hasta alcanzar la dosis de 25 mg en 24 horas. Los pacientes serán evaluados antes de la administración de cada dosis, con énfasis en:

1. Condiciones generales,
2. Frecuencia cardiaca > 65 latidos /min y presión sistólica > 90 mm Hg.
3. Ausencia de hipotensión ortostática.

Pacientes con indicación médica para anticoagulación se les administrara heparina de bajo peso molecular a dosis de 1 mg/kg BID más warfarina sódica 5mg VO OD hasta alcanzar INR entre 2-3. A partir de este momento se continuara solamente con la warfarina sódica.

EXÁMENES ESPECIALES

Ecocardiograma bidimensional

Se llevará a cabo en las primeras 12 horas de ingreso del paciente y antes de su egreso. Se realizará en el laboratorio de ecocardiografía del Instituto de Investigaciones Cardiovasculares del IAHULA por el grupo de colaboradores del equipo de investigación. Se tomarán las siguientes mediciones en Modo M y bidimensional: Diámetros, volúmenes, cuantificación de la fracción de eyección por método biplano y área longitud, índice de esfericidad, TAPSE. Estudio Doppler pulsado: mitral (onda E, onda A, relación E/A, TDA, tiempo de contracción isovolumétrica, tiempo de relajación isovolumétrica). Doppler color a nivel mitral, tricuspídeo, aórtico y pulmonar, además de Doppler Tisular. También se determinara los cambios de los volúmenes de la aurícula izquierda por el método de área longitud y el método biplano de las vista de cuatro cámaras y dos cámaras. La disfunción sistólica se definirá si el paciente presenta una FEVI < 45 %. En cuanto a la disfunción diastólica se divide la velocidad de la onda E del flujo transmitral entre la velocidad de la onda A como paso inicial. Si E/A es < 0.75 , se considera disfunción diastólica grado I. Si E/A está en los rangos normales (0.75 a 1.5) y el tiempo de desaceleración excede los 140 ms, los índices Doppler adicionales son usados para determinar si el llenado es normal (función diastólica normal) o “pseudonormal.” Si el análisis del flujo y del Doppler tisular indican presiones de llenado elevadas (Velocidad Sistólica de Vena Pulmonar/ Diastólica < 1 ; o E/e' > 10), se considera disfunción diastólica grado II. Si E/A es > 1.5 y al menos otros

dos índices muestran presiones de llenado elevadas (tiempo de desaceleración <140 ms, VPS/D <1, E/e' >10), se considera disfunción diastólica grado III. Un tiempo de desaceleración menor de 140 ms es considerado un índice de presiones de llenado elevadas y otro índice se requiere para la confirmación.

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

Se tomarán muestras de sangre al ingreso y a las 96 horas. Las muestras de suero serán 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 será sometido a calentamiento durante 5 min a 100 °C. Cada una de las muestras será sometida a electroforesis y posteriormente electrotransferidas a membranas de PVDF a fin de realizar el western blot. La Electroforesis se llevara a cabo en gel de poliacrilamida en condiciones desnaturalizantes (SDS-PAGE). Para todas las corridas se utilizará 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 serán 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 será 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 incubaran con los siguientes anticuerpos primarios: anti-MMP-2, anti-MMP-9 diluidos 1/200 en TBS-BSA al 0,5%. Luego de realizar los lavados respectivos se incubaran con los anticuerpos secundarios (anti-IgG de conejo y anti-IgG de ratón), conjugados a HRP, diluidos 1/20000 en TBS-BSA al 0,5%. Para finalizar y luego de lavar la membrana se incubarán con Luminol (SuperSignal West Dura Extended DurationSubstrate de PIERCE) y se expondrán en oscuridad a una película de autoradiografía.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Cálculo del tamaño de la muestra: $n=20$.

Se determinó este tamaño de muestra para un intervalo de confianza del 95%, con un error α 0,05, y un error β 0,20 para un poder del test del 80%, una diferencia de media entre los grupos de 60 y una desviación estándar de 20, para un total de 10 para cada grupo. Los resultados obtenidos se analizaron de la manera siguiente. Las variables continuas se expresaron como Medias \pm Desviación Estándar. Las variables categóricas se expresan como frecuencias y porcentajes. Se aplicó el test de Kolgomorov-Smirnov para saber si las variables continuas se distribuyen normalmente. Las comparaciones de las variables continuas normalmente distribuidas se realizó mediante T-Test de Student para datos de muestra independientes y T-Test pareado para datos apareados. Se usaron pruebas no paramétricas para variables que no presentaron distribución normal. Test de Mann-Whitney para muestras independientes y test de Wilcoxon para muestras relacionadas. El test de Fisher se utilizó para variables categóricas. Se aplicó análisis de correlación de Pearson para la relación entre las diferentes variables, y análisis de regresión univariable y multivariable para saber cual variable independiente se relacionó mejor con la variable dependiente, por lo cual se introduce al modelo las variables independientes con un valor menor de 0,05, y se rechazó, en el modelo, variables con valores mayores de 0,10. Se consideró un valor de $p < 0.05$ para ser estadísticamente significativo. Todos estos análisis se realizaron con el programa estadístico de SPSS versión 19.0 para Windows y Medcalc V 9.10.

RESULTADOS

La inclusión de los pacientes se inició en septiembre de 2012 y se extendió hasta octubre de 2013. Fueron estudiados trece pacientes en insuficiencia cardiaca agudamente descompensada. Seis de ellos asignados de manera consecutiva al protocolo con carvedilol y siete al protocolo con furosemida. Las variables demográficas, clínicas ecocardiográficas basales fueron semejantes en ambos grupos de pacientes (Tabla 1). La edad promedio fue de 67.0 ± 10.2 años y el 69% eran varones. La mitad de los pacientes asignados al protocolo Carvedilol se encontraban en clase funcional III al ingreso, y el resto en clase funcional IV. En cuanto al protocolo Furosemida, cuatro encontraban en clase funcional III (57.1%) y tres en clase funcional IV (42.9%). Dos (42.9%) de los pacientes asignados al grupo furosemida se encontraban en fibrilación auricular. El 33.3% paciente asignado al grupo de carvedilol se encontraba en fibrilación auricular. El resto de los pacientes incluidos en el protocolo presentaban ritmo sinusal. No hubo, durante la realización del estudio, trastornos de la conducción auriculoventricular o episodios de hipotensión arterial relacionados con la aplicación de uno u otro protocolo.

www.bdigital.ula.ve

TABLA 1. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y ECOCARDIOGRÁFICAS INICIALES.*

Característica	Carvedilol (N=6)	Furosemida (N=7)	p
Edad (años)	63.5±6	70.1±12.5	NS
Sexo masculino [n° (%)]	3 (50)	6 (85.7)	NS
Peso (kg)	78.9±21.9	68.8 ± 12.7	NS
Tensión arterial (mmHg)			
Sistólica	111.6±26.3	127.5±19.0	NS
Diastólica	74.61±7.1	83.4 ± 12.6	NS
Frecuencia cardiaca	107±13.5	107.0 ± 11.2	NS
Ritmo [n° (%)]			
Sinusal	4	4 (57.1)	
Fibrilación auricular	2	3 (42.9)	
Clase funcional NYHA [n° (%)]			
III	3 (50)	4 (57.1)	NS
IV	3 (50)	3 (42.9)	NS
FEVI (%)	21.5±6	17.7 ± 6.1	NS
* Los valores se expresan en media ± desviación estándar. NYHA: New York Heart Association. FEVI: fracción de eyección del ventrículo izquierdo. NS: No significativo.			

PESO CORPORAL SECO.

El peso corporal seco de los grupos de pacientes, al comienzo del periodo de compensación fue semejante (Tabla 1). La pérdida de peso promedio en el grupo que recibió carvedilol fue de 6.75 ± 2.9 kg ($p = 0.002$, IC95%: 3.66-9.83 kg) y de 4.4 ± 2.1 kg ($p = 0.002$, IC95%: 2.3-6.4 kg) en el grupo que recibió diuréticos. No hubo diferencias significativas entre los grupos al comparar la magnitud del peso perdido durante el periodo de compensación ($p = 0.144$) (Gráfico 1). Sin embargo, la variación intragrupo, o sea la disminución en términos absolutos del peso corporal en cada grupo, si fue estadísticamente diferente.

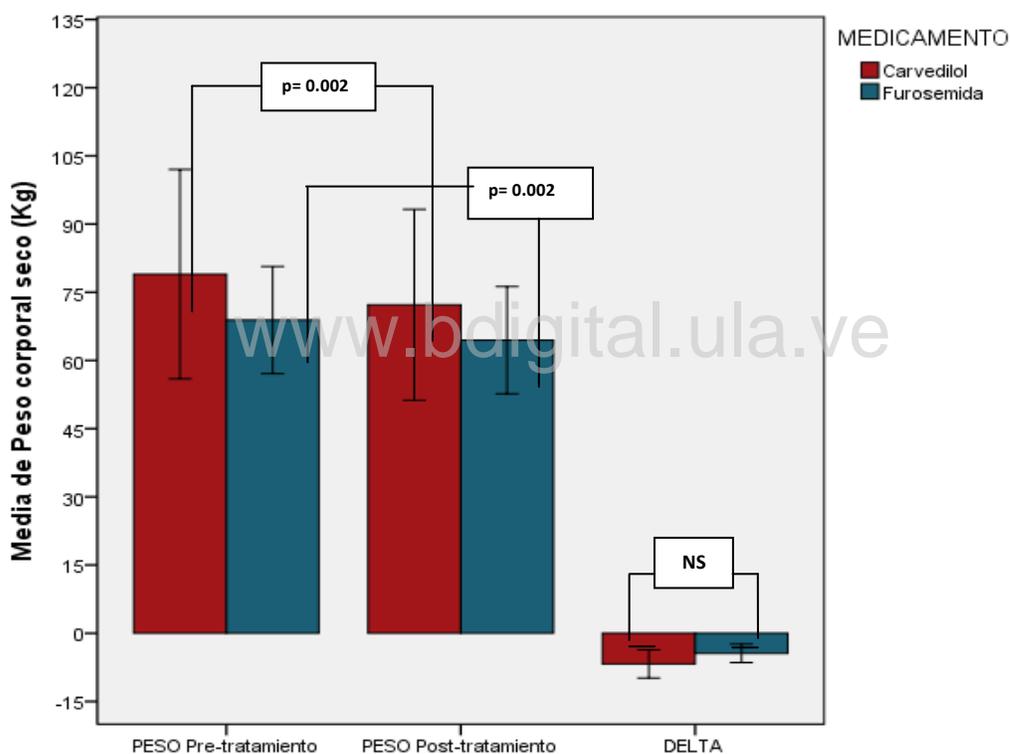


Gráfico 1. Variaciones del peso corporal seco durante el periodo de compensación. El peso corporal seco fue similar en los dos grupos de pacientes al comienzo del periodo de compensación. En ambos se observó un descenso significativo a las 96 horas de tratamiento. La variación absoluta del peso corporal entre los dos grupos no fue diferente. Las barras corresponden a la media de cada grupo. Intervalo de confianza al 95 %.

FRECUENCIA CARDIACA.

La frecuencia cardíaca se redujo de manera significativa en ambos grupos de pacientes. El grupo tratado con carvedilol experimentó una disminución de 40.8 ± 12.6 latidos por minuto ($p = 0.001$ IC95% 27.5–54.0 lpm). En el grupo que recibió dosis frecuentes de furosemda, la frecuencia cardíaca se redujo en 22.0 ± 12.0 latidos por minuto ($p = 0.003$ IC 95% 10.8 – 33.1). La magnitud de la reducción de la frecuencia cardíaca con carvedilol fue mayor que la observa con furosemda. ($p 0.02$ IC 95% 34.0 – 3.6) (Figura 2).

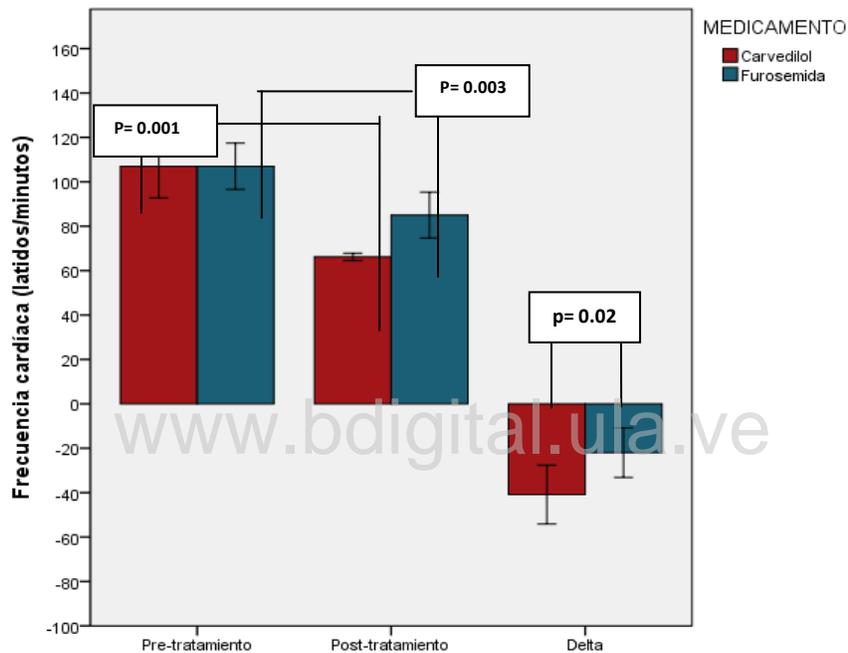


Gráfico 2. Variaciones de la frecuencia cardíaca durante el periodo de compensación. La frecuencia cardíaca fue similar en los dos grupos de paciente al comienzo del periodo de compensación. En los dos grupos se observó un descenso significativo a las 96 horas de tratamiento. La variación absoluta de la frecuencia cardíaca entre los dos grupos fue significativamente mayor en el grupo de carvedilol. Las barras corresponden a la media de cada grupo. Intervalo de confianza al 95 %.

CLASE FUNCIONAL DE LA NEW YORK HEART ASSOCIATION

Durante el periodo de compensación, se observó una importante y significativa mejoría en el estado funcional de todos los pacientes. Esta mejoría se expresó en un cambio en la clase funcional. En el grupo tratado con carvedilol, cuatro pacientes mejoraron su clase funcional en dos clases de la NYHA (dos pasaron de clase IV a clase II, dos pasaron de clase III a clase I) y un paciente mejoró en tres clases (clase IV a clase I). Un solo paciente mostro mejoría de una clase (clase III a clase II). Estos cambios funcionales fueron estadísticamente significativos ($p < 0.001$) (Figura 1). En relación a los pacientes tratados con furosemida, cinco pacientes mejoraron su clase funcional en dos clases de la NYHA (tres pasaron de clase III a clase I y dos pasaron de clase IV a clase II). Hubo mejoría de una clase en dos pacientes. Uno cambió de clase III a clase II y otro de clase IV a clase III). La mejoría de la clase funcional en el grupo que fue tratado con furosemida fue igualmente significativa del punto de vista estadístico ($p < 0.0001$). Cuando se comparó la mejoría de la clase funcional entre los dos grupos, no se observó diferencia significativa ($p = 0.3$).

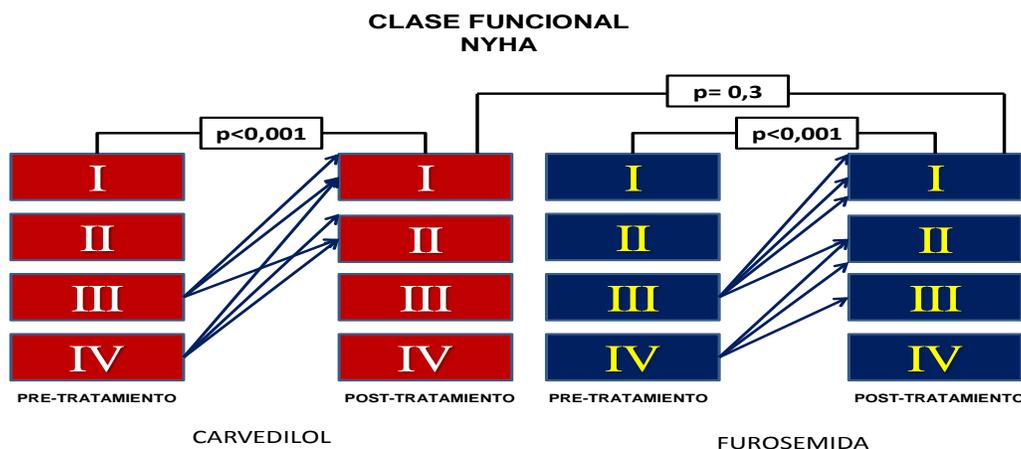


Figura 1. Cambios en la clase funcional con la administración de carvedilol y furosemida. Los cambios observados en cada grupo fueron estadísticamente significativos. Sin embargo, no hubo diferencia entre los grupos.

PRESIÓN ARTERIAL

PRESIÓN ARTERIAL SISTÓLICA

La presión arterial sistólica (PAS) al momento del ingreso fue de 120.2 ± 23.2 mmHg, en promedio para los dos grupos de pacientes. Los valores de PAS inicial en el grupo de carvedilol y furosemida fueron de 111.6 ± 26.3 y 127.5 ± 19.9 mmHg, respectivamente ($p=0.2$, NS). La PAS se redujo de manera no significativa en 10.3 ± 21.9 mmHg en la totalidad de los pacientes. La reducción de la PAS durante la hospitalización en el grupo medicado con carvedilol fue de 5 ± 22.5 mmHg ($p=0.6$, NS) y de 14.8 ± 21.9 mmHg ($p=0.1$, NS) en el grupo de furosemida. Al comparar la reducción de la PAS en un grupo con el otro, no hubo diferencias significativas ($p=0.4$) (Gráfico 4).

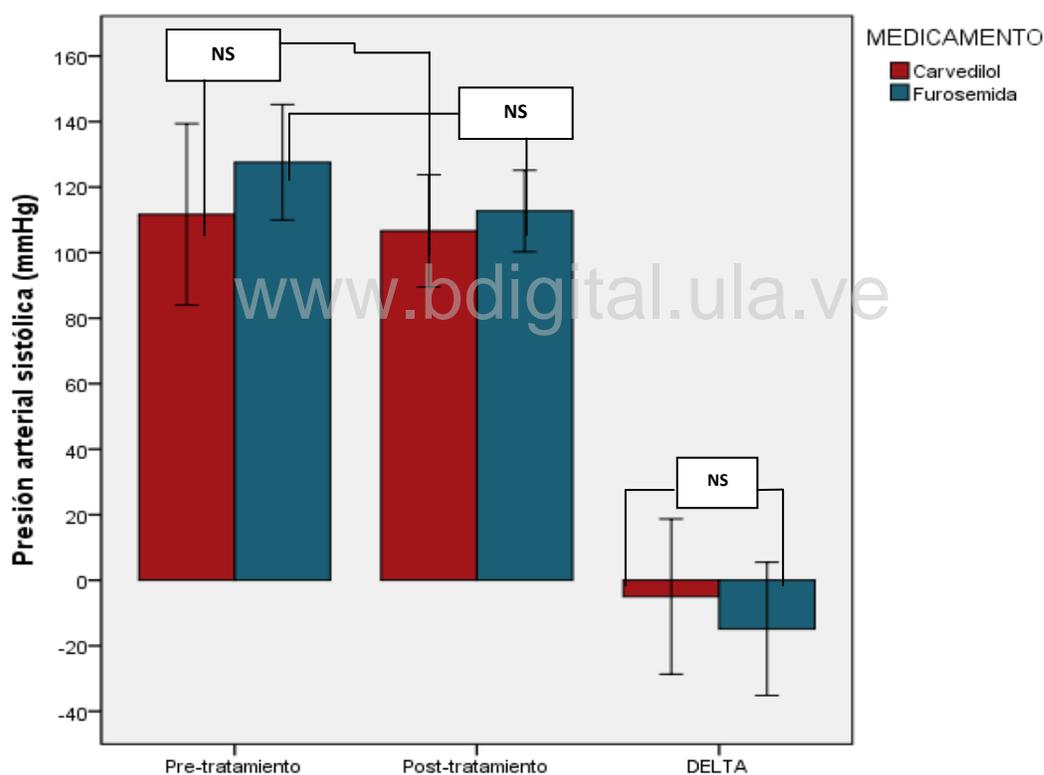


Gráfico 4. Variaciones de la presión arterial sistólica durante el periodo de compensación. La presión arterial sistólica fue similar en los dos grupos al comienzo del periodo de compensación. En ambos grupos se observó un descenso no significativo a las 96 horas de tratamiento. La variación absoluta de la presión entre los dos grupos no fue diferente. Sin embargo, la magnitud del descenso fue mayor con la furosemida. Las barras corresponden a la media de cada grupo. Intervalo de confianza al 95 %.

PRESIÓN ARTERIAL DIASTÓLICA

La presión arterial diastólica (PAD) al momento del ingreso fue de 79.38 ± 14.9 mmHg. La PAD inicial en el grupo tratado con carvedilol y furosemida fueron de 74.6 ± 17.1 y 83.4 ± 12.6 respectivamente ($p= 0.4$). La PAD se redujo en 5 ± 15.9 mmHg en la totalidad de los pacientes. La reducción de la PAD durante la hospitalización en el grupo que recibió carvedilol fue de 4.6 ± 16 mmHg ($p= 0.5$ respecto al basal) y de 5.2 ± 17.1 mmHg ($p= 0.4$ respecto al basal) en el grupo furosemida. Al comparar la reducción de la PAD en un grupo con el otro no hubo diferencias significativas ($p 0.9$) (Gráfico 5).

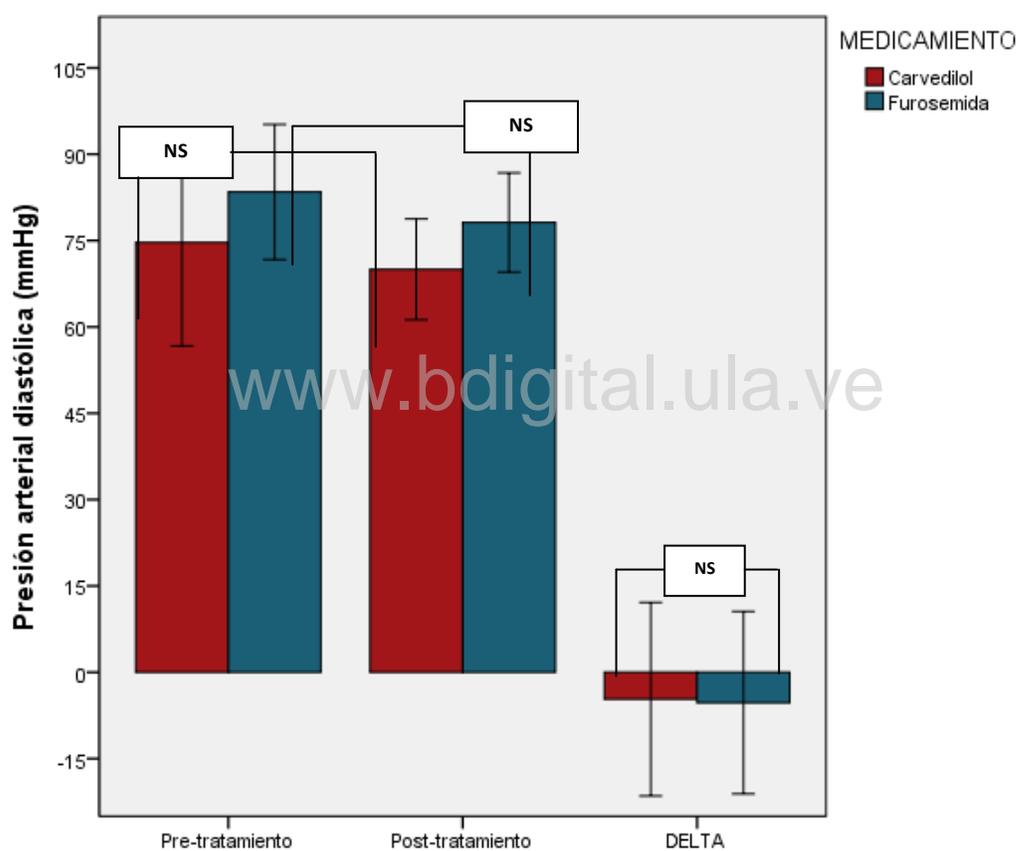


Gráfico 5. Variaciones de la presión arterial diastólica durante el periodo de compensación.

La presión arterial diastólica fue similar en los dos grupos de pacientes al comienzo del periodo de compensación. En los dos grupos se observó un descenso no significativo a las 96 horas de tratamiento. La variación absoluta de la presión arterial entre los dos grupos no fue diferente. Las barras corresponden a la media de cada grupo. Intervalo de confianza al 95 %.

METALOPROTEINASAS 2 Y 9

Se obtuvieron de los 13 pacientes, muestras para medir metaloproteinasas de tipo 9 (90Kda) y del tipo 2 (25 y 60Kda).

METALOPROTEINASA 9 (MMP 9-90Kda)

Los valores basales del grupo de pacientes que recibió furosemida fueron significativamente mayores, en el grupo que recibió furosemida (Tabla 2). Se observó una disminución **no** significativa de los valores séricos de la metaloproteinasa 9-90 Kda, entre el comienzo y el final del periodo de compensación. Si bien, la magnitud de la variación fue semejante en los dos grupos de pacientes, la disminución observada con furosemida fue mayor que con el carvedilol (Tabla 2 y Grafico 6).

www.bdigital.ula.ve

METALOPROTEINASA 2 (MMP 2-25, MMP 2-60Kda)

Los valores basales de los dos grupos de pacientes fueron semejantes para el momento del ingreso. No hubo diferencia estadísticamente significativa entre los valores basales y los valores post-tratamiento, en ninguno de los grupos. Si bien, la magnitud de la variación fue semejante en los dos grupos de pacientes, la disminución observada con carvedilol fue mayor que con la furosemida (Tabla 2 y Grafico 7). El comportamiento de la MMP2-60kda fue semejante al de la MMP 2-25Kda (Grafico 8).

Tabla 2. Niveles de metaloproteinasas antes y después de utilizar Carvedilol y furosemida en paciente con Insuficiencia cardiaca agudamente descompensada.

METALOPROTEINASAS	Carvedilol M±SD	Furosemida M±SD	p
MMP 9-90Kda Pre tratamiento	83136,6 (62488)	165516,8(62149)	0,03
MMP 9-90Kda Post tratamiento	74837,8(43706)	145286,8(59456)	0,03
Δ MMP 9-90Kda	-8298,8 (29648)	-20230,0 (37488)	NS
MMP 2-25Kda pretratamiento	183975,5(92002)	151204,4 (39593)	NS
MMP 2-25Kda Post tratamiento	167327,1(81504)	147414,5(38888)	NS
Δ MMP 2-25Kda	-19473,8(24035)	-3789,8(29998)	NS
MMP 2-60Kda pretratamiento	188140,0(84893)	165516,8(62149)	NS
MMP 2-60Kda Post tratamiento	178691,0(93706)	145286,8(59456)	NS
Δ MMP 2-60Kda	-8298,8(14346)	-20230,0(37488)	NS

M: Media

SD: Desviación estándar

www.bdigital.ula.ve

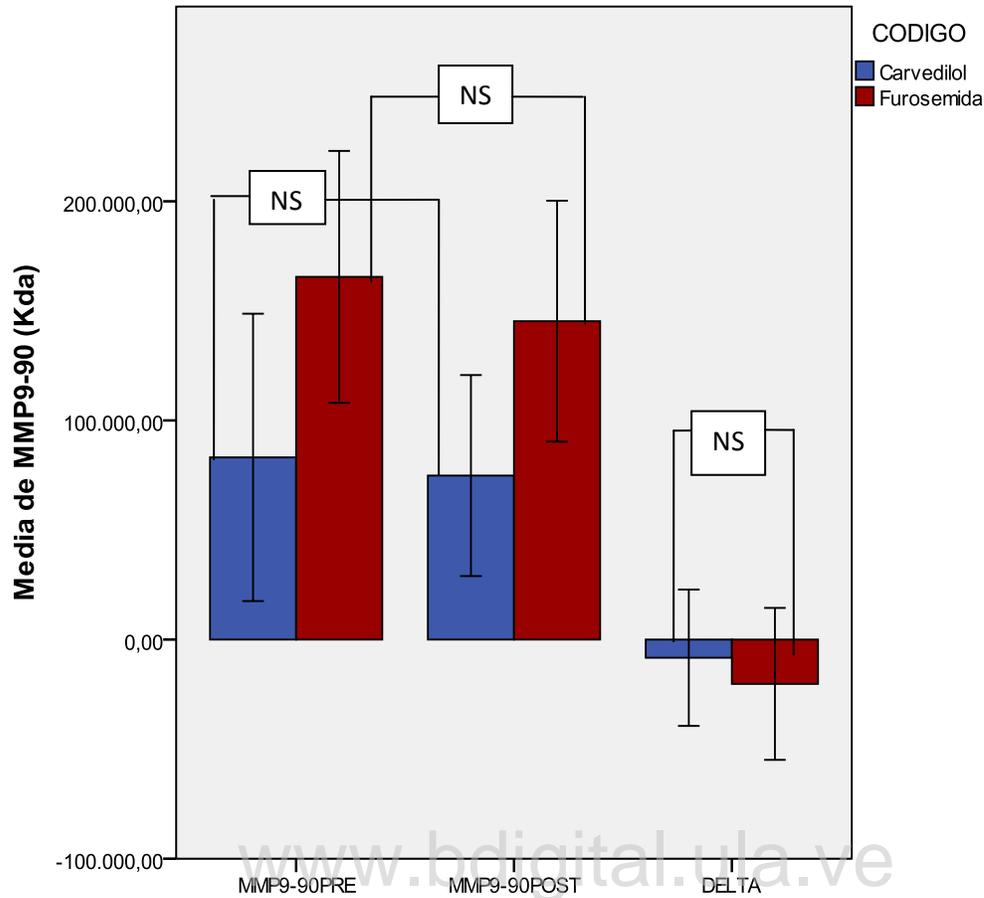


Grafico 6. Niveles de Metaloproteinasas 9-90Kda basales y post tratamiento con Carvedilol y furosemida. Los valores basales del grupo de pacientes que recibió furosemida fueron significativamente mayores. Se observó una disminución **no** significativa de los valores séricos de la metaloproteinasas 9-90 Kda, entre el comienzo y el final del periodo de compensación. Sin embargo, la magnitud de la variación no fue diferente entre los dos grupos.

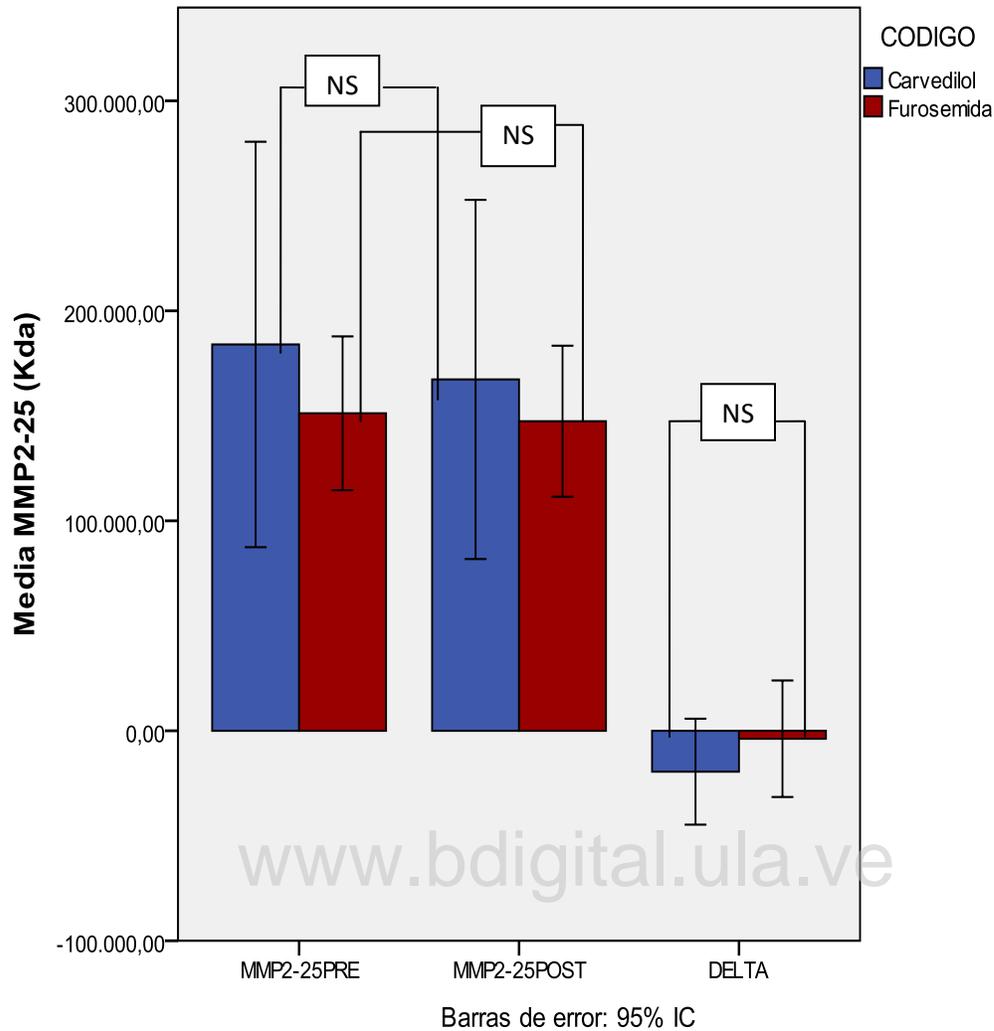


Grafico 7. Niveles de Metaloproteinasas 2-25 Kda basales y post tratamiento con carvedilol y furosemida. Los valores basales del grupo de pacientes que recibió furosemida fueron semejantes a los del grupo que recibió carvedilol. Se observó una disminución **no** significativa de los valores séricos de la metaloproteinasas entre el comienzo y el final del periodo de compensación. Sin embargo, la magnitud de la variación no fue diferente entre los dos grupos.

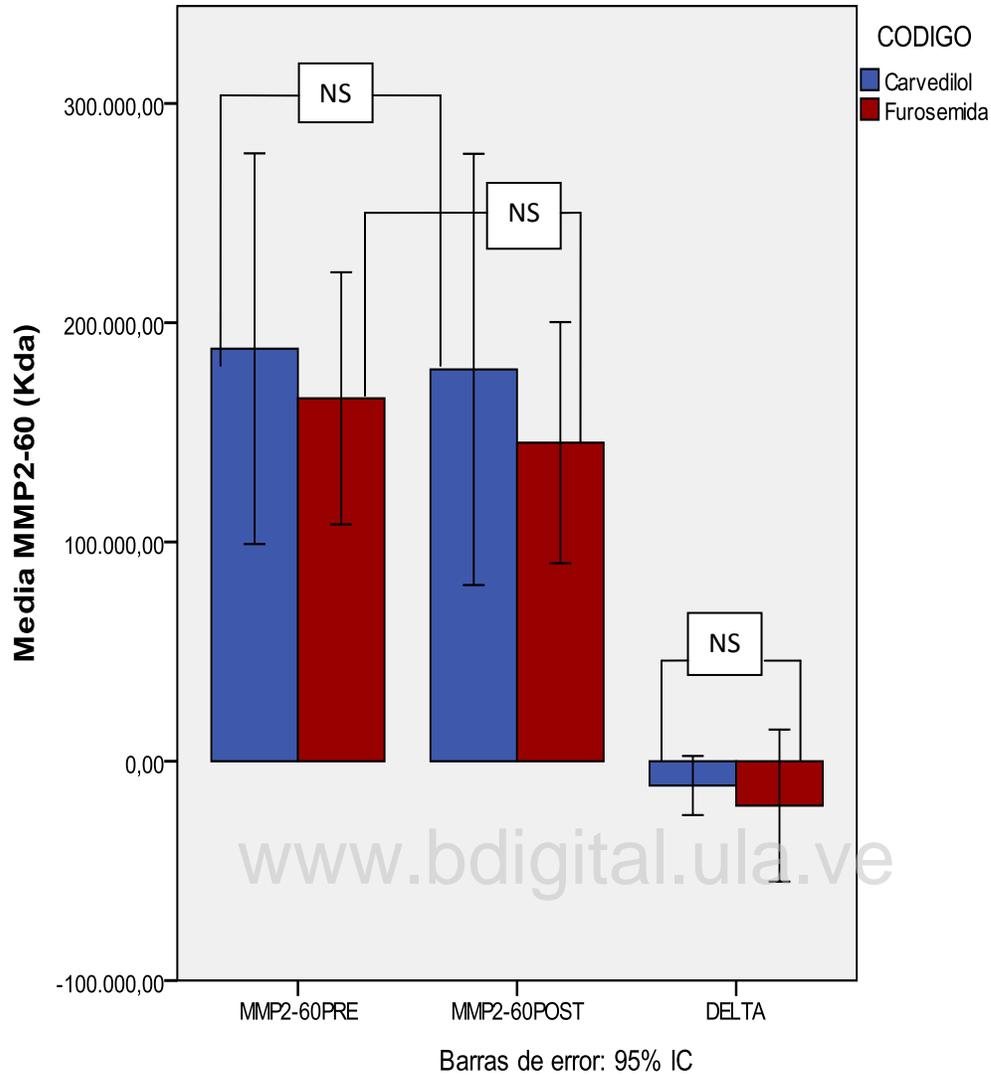


Grafico 7. Niveles de Metaloproteinasas 2-60 Kda basales y post tratamiento con carvedilol y furosemida. Los valores basales del grupo de pacientes que recibió furosemida fueron semejantes a los del grupo que recibió carvedilol. Se observó una disminución **no** significativa de los valores séricos de la metaloproteinasas entre el comienzo y el final del periodo de compensación. Sin embargo, la magnitud de la variación no fue diferente entre los dos grupos.

DISCUSIÓN

En esta investigación clínica y paraclínica, **no** aleatorizada y **no** controlada con placebo, nos propusimos demostrar que, la administración oral de carvedilol, tiene efectos beneficiosos tempranos sobre la descompensación aguda del paciente con insuficiencia cardíaca sistólica crónica. Observamos en las variables clínicas, relacionadas con la compensación (Peso corporal seco, Frecuencia cardíaca, Clase funcional), mejoría con las estrategias terapéuticas utilizadas. En particular, la reducción del peso corporal seco y la mejoría en la clase funcional, a las 96 horas de iniciado el tratamiento, fue semejante en los dos grupos de pacientes. Sin embargo, debemos destacar que la reducción de la frecuencia cardíaca fue significativamente mayor con el carvedilol.

Nuestra investigación se propuso, simultáneamente a la demostración de la compensación clínica durante el periodo de estudio, determinar los niveles séricos de las metaloproteinasas 2 y 9, al inicio y al final del mismo, con la finalidad de conocer el posible efecto sobre ellas de las dos estrategias utilizadas. **Es necesario destacar la condición clínica de estos pacientes, para el momento de la toma de la muestra basal. Todos los pacientes se encontraban en franca insuficiencia cardíaca agudamente descompensada (Clases Funcionales III-IV NYHA).** La frecuencia cardíaca basal era de 107 latidos por minuto. Al analizar los resultados de las metaloproteinasas, encontramos que, los valores basales de la MMP 9-90Kda de los pacientes a ser tratados con furosemida, eran significativa mayores que los del grupo a ser tratados con carvedilol. En ambos grupos hubo un descenso, **no** estadísticamente diferente. La diferencia observada en los niveles basales pudiera ser expresión del tamaño de la muestra, ya que los grupos eran comparables en cuanto a las características clínicas y demográficas. En cuanto a las metaloproteinasas 2 25kda y 2 60Kda, los niveles basales de los grupos eran semejantes y la disminución con ambas estrategias tampoco fue diferente del punto de vista estadístico.

Las metaloproteinasas séricas son proteasas encargadas de la síntesis y degradación de la matriz extracelular cardíaca (23-29). La actividad de estas enzimas está relacionada con el fenotipo cardíaco de remodelación cardíaca (Geometría ventricular izquierda) y con el grado de disfunción ventricular (30,31). En un estudio previo llevado a cabo en pacientes

chagásicos con y sin co-morbilidades, encontramos que los individuos control sanos (16.929 ± 30.352 , $M \pm DE$) y los pacientes chagásicos con geometría ventricular normal tenían niveles séricos de la metaloproteinasas 2 25Kda semejantes (24905 ± 11917) (Figura 8). Por el contrario, los niveles séricos de la proteasa estaban elevados en los pacientes con hipertrofia ventricular excéntrica e **insuficiencia cardíaca compensada (Frecuencia cardíaca basal 70 latidos por minuto)** y se correlacionaron de manera directa con la clase funcional (203790 ± 89629) (32).

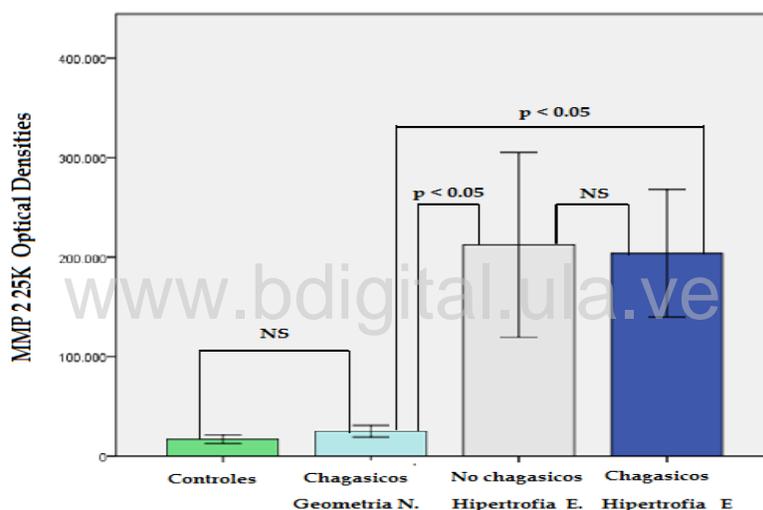


Figura 8. Metaloproteinasas 2 25K en pacientes con geometría ventricular normal e insuficiencia cardíaca compensada con hipertrofia ventricular excéntrica. Los pacientes chagásicos, con geometría ventricular normal, tienen niveles séricos de MMP 2 25K semejantes a los individuos control sanos. Por el contrario, los pacientes chagásicos y no chagásicos, en insuficiencia cardíaca compensada con hipertrofia ventricular excéntrica, tienen elevada la MMP 2 25 K (32).

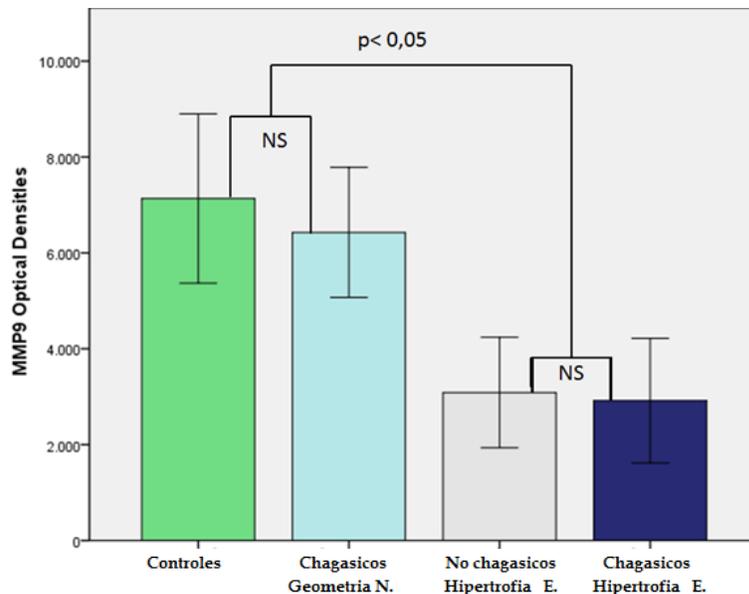


Figura 9. Metaloproteinas 9 en pacientes con geometría ventricular normal e insuficiencia cardiaca compensada con hipertrofia ventricular excéntrica. Los pacientes chagásicos, con geometría ventricular normal, tienen niveles séricos de MMP 9 semejantes a los individuos control sanos. Por el contrario, los pacientes chagásicos y no chagásicos, en insuficiencia cardiaca compensada con hipertrofia ventricular excéntrica, tienen disminuida la MMP 9 (32).

Sin embargo, la proteasa MMP 9 90 Kda **no** se encontró elevada en estos pacientes (3087 ± 1098), mientras que **si** se encontró elevada en el estudio actual ($83136,6 \pm 62488$) (Figura 9). (32). En otras palabras, los actuales resultados indicarían que, en situación de descompensación clínica donde predominan las clases funcionales III y IV, las dos metaloproteinasas 2 y 9 se encuentran elevadas.

Las investigaciones clínicas sobre la actividad de las metaloproteinasas 2 y 9, en pacientes con insuficiencia cardiaca sistólica, han reportado resultados contradictorios. Las biopsias de tejido miocárdico de pacientes con miocardiopatía dilatada, en fase terminal, comparadas con individuos sanos muestran un franco predominio vs disminución de la

actividad de la MMP9 (33). El predominio de una u otra metaloproteinasa parece estar relacionado con la etiología de la cardiopatía subyacente. En pacientes isquémicos se elevan ambas metaloproteinasas. La MMP2 predomina en pacientes no isquémicos (34). El status funcional cardíaco también parece estar relacionado con la proteasa activada. En pacientes con dispositivos ventriculares de asistencia mecánica, colocados durante meses, se aprecia una importante disminución de la MMP9. La MMP2 se mantiene elevada (35). En otras palabras, más que la etiología subyacente es la condición clínica global del paciente, lo que parece determinar cuál proteasa se encuentra activada (36). Nuestros resultados son congruentes con estos hallazgos: Los pacientes compensados, con frecuencias cardíacas basales menores o iguales a 70 latidos por minuto, tienen predominantemente activada la MMP2. Por el contrario, los pacientes descompensados, con frecuencias cardíacas basales de 100 o más latidos por minuto, tienen activadas tanto la MMP2 como la MMP9.

www.bdigital.ula.ve

LIMITACIONES

El número de pacientes estudiados es reducido y el estudio no fue controlado por placebo. Sin embargo, los resultados muestran una tendencia a disminuir por parte de las metaloproteinasas estudiadas, en la medida en que mejora la condición clínica del paciente. Quizás con una muestra mayor se pueda mostrar un cambio significativo en los niveles séricos de las metaloproteinasas, al administrar las diferentes estrategias terapéuticas.

www.bdigital.ula.ve

CONCLUSIONES

1. En los pacientes con insuficiencia cardiaca crónica agudamente descompensada, las estrategias terapéuticas basadas en Carvedilol o dosis frecuentes de diuréticos permiten la compensación del paciente.
2. Las metaloproteinasas 2 y 9 se encuentran francamente elevadas en los pacientes descompensados.
3. Las dos estrategias provocan una disminución **no** significativa de los niveles de metaloproteinasas 2 y 9.
4. Los hallazgos de la presente investigación, sumados a estudios previos en pacientes compensados, nos permiten conocer el espectro de activación de las metaloproteinasas 2 y 9. El paciente descompensado tiene elevadas las dos metaloproteinasas. La compensación reduce progresivamente los niveles de la segunda, con persistencia de la primera.

www.bdigital.ula.ve

BIBLIOGRAFIA

1. McDermott MM, Feinglass J, Lee PI, Mehta S, Schmitt B, Lefevre F, Gheorghide M. Systolic function, readmission rates, and survival among consecutively hospitalized patients with congestive heart failure. *Am heart J* 1997;134: 728-736.
2. Solomon SD, Dobson J, Pocock S, Skali H, McMurray JJ, Granger CB, Yusuf S, Swedberg K, Young JB, Michelson EL, Pfeffer MA; Candesartan in Heart failure: Assessment of Reduction in Mortality and morbidity (CHARM) Investigators. Influence of nonfatal hospitalization for heart failure on subsequent mortality in patients with chronic heart failure. *Circ* 2007;116:1482.
3. Zile MR, Bennet TD, Sutton MST, Cho YK. Transition from chronic compensated to acute decompensated heart failure. *Circulation* 2008;118:2:1433-1441.
4. Drazner MH, Hellkamp AS, Leier CV, Shah MR, Miller LW, Russell SD, Young JB, Califf RM, Nohria A. Value of clinician assessment of hemodynamics in advanced heart failure. *Circ Heart Fail* 2008;1: 170-177
5. Drazner MH, Hellkamp AS, Leier CV, Shah MR, Miller LW, Russell SD, Young JB, Califf RM, Nohria A. Value of clinician assessment of hemodynamics in advanced heart failure. *Circ Heart Fail* 2008;1: 170-177.
6. Nohria A, Tsang SW, Fang JC, Lewis EF, Jarcho JA, Mudge GH, Stevenson LW., Clinical assessment identifies hemodynamic profiles that predict outcomes in patients admitted with heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:1797-1784. .
7. Konishi M, Maejima Y, Inagaki H, Clinical characteristics of acute decompensated heart failure with rapid onset symptoms. *J Card Fail* 2009;15:300-304.
8. 8.-Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic heart failure. *Eur Heart J* . 2001;22:1527-1560.

9. Executive summary: HFSA 2006 .Comprehensive Heart Failure Practice Guideline. Heart Failure Society Of America. Haraguchi G. , Hachiya H, Suzuki J, Hirao K, Isobe M. J Card fail 2006;12:10-38.
10. Peacock WF, Costanzo MR, De Marco T, Lopatin M, Wynne J, Mills RM, Emerman CL; ADHERE Scientific Advisory Committee and Investigators. Impact of intravenous loop diuretics on outcomes of patients hospitalized with acute decompensated heart failure: insights from the ADHERE registry. *Cardiology* 2009;113: 12-19.
11. Vaz Pérez A, Ottawa K, Zimmermann AV, Stockburger M, Müller-Werdan U, Werdan K, Schmidt HB, Ince H, Rauchhaus M. The impact of impaired renal function on mortality in patients with acutely decompensated chronic heart failure. *Eur J Heart Fail.* 2010 ;12:122-128.
12. Felker GM, Lee KL, Bull DA, Redfield MM, Stevenson LW, Goldsmith SR, LeWinter MM, Deswal A, Rouleau JL, Ofili EO, Anstrom KJ, Hernandez AF, McNulty SE, Velazquez EJ, Kfoury AG, Chen HH, Givertz MM, Semigran MJ, Bart BA, Mascette AM, Braunwald E, O'Connor CM; NHLBI Heart Failure Clinical Research Network. Diuretic strategies in patients with acute decompensated heart failure . *N Engl J Med.* 2011;364:797-805..
13. Testani JM, Chen J, McCauley BD, Kimmel SE, Shannon RP. Potential effects of aggressive decongestion during the treatment of decompensated heart failure on renal function and survival. *Circulation.* 2010 ;122:265-272.
14. McMurray JJ. Clinical practice. Systolic heart failure. *N Eng J Med* 2010;362: 228-338.
15. Fonarow GC, Abraham WT, Albert NM, Stough WG, Gheorghide M, Greenberg BH, O'Connor CM, Sun JL, Yancy CW, Young JB; OPTIMIZE-HF Investigators and Coordinators, Influence of beta-blocker continuation or withdrawal on outcomes in patients hospitalized with heart failure: findings from the OPTIMIZE-HF program. *J Am Coll Cardiol.* 2008;52:190-199.

16. Orso F. et al. Italian Survey on Acute Heart Failure Investigators . Role of Beta Blockers in patients admitted for worsening heart failure in a real world: data from the Italian Survey on Acute Heart Failure. *European Journal of Heart Failure* 2009 ;11: 77–84.
17. Lobo-Vielma L. Comenares-Mendoza H, Donis JH, Sanchez F, Perez A. Villarreal V. Dávila DF. Acutely decompensated heart failure: Effects of carvedilol on clinical status, neurohormonal activation and ventricular arrhythmias. *Int J Cardiol* 2010;144:302-303.
18. Dávila DF, Nuñez TJ, Odreman R, de Dávila CA. Mechanisms of neurohormonal activation in chronic congestive heart failure: Pathophysiology and therapeutic implications. *Int J Cardiol* 2005;101:343-346.
19. Davila DF, Donis JH, Bellabarba G, Torres A, Casado J. Mazzei de Dávila CA. Cardiac afferents and neurohormonal activation in congestive heart failure. *Med Hypotheses* 2001;54:242-253.
20. Dávila-Spinetti DF, Mazzei de Dávila CA, Donis JH, Arata de Bellabarba G, Villarreal V, Sanchez F, Santiago J, Ramoni-Perazzi P. Estrategias terapéuticas, dirigidas a contrarrestar las alteraciones del sistema nervioso autónomo, en las enfermedades cardiovasculares. *Avances Cardiológicos* 2012;32:170-179.
21. Gomez JA. Estrategias para el manejo farmacológico de la descompensación aguda del paciente con insuficiencia cardíaca crónica (ETICA III): Efectos sobre variables clínicas, osmolaridad urinaria y niveles urinarios de sodio. Tesis de grado. Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela (2011).
22. Sanchez F, Perez A, Donis JH, Gonzalez M, Davila DF. Carvedilol in acutely decompensated patients with chronic systolic heart failure: Effects on survival. (Enviado a publicación).
23. Spinale FG. Myocardial matrix remodelling and the matrix metalloproteinases: Influence on cardiac form and function. *Physiology Review* 2007;87:1285-1290.

24. Spinale FG. Matrix metalloproteinases: regulation and dysregulation in the failing heart. *Circ Res.* 2002 ;90:520-530.
25. 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.
26. López B, González A, Querejeta R, Larman M, Díez J. 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.
27. Chapman RE, Spinale FG. Extracellular protease activation and unraveling of the myocardial interstitium: critical steps toward clinical applications. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2004 J286:H1-H10.
28. López B, González A, Hermida N, Valencia F, de Teresa E, Díez J. Role of lysyl oxidase in myocardial fibrosis: from basic science to clinical aspects. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 299: H1–H9, 2010.
29. Lopez B, Querejeta R, Gonzalez A et al., Impact of Treatment on Myocardial Lysyl Oxidase Expression and Collagen Cross-Linking in Patients With Heart Failure. *Hypertension* 2009;53:236-242.
30. Banfi C, Cavalca V, Veglia F., et al. Neurohormonal activation is associated with increased levels of plasma matrix metalloproteinase-2 in human heart failure. *European Heart Journal* 2005; 26, 481–488.
31. Yoshoro N, Tsujino T, Lee-Kawabata M., et al. Matrix metalloproteinase-1 and -2 levels are differently regulated in acute exacerbation of heart failure in patients with and without left ventricular systolic dysfunction. *Heart Vessels* 2009;24:181–186.

32. Garcia M, Lopez-Mendez G, Donis JH, Salmen S, Berroeta L, Davila DF. Serum metalloproteinases in chagasic patients with systolic heart failure (Enviado a publicación).
33. Thomas CV, Coker ML, Zellner JL, Handy JR, Crumbley AJ 3rd, Spinale FG. Increased matrix metalloproteinase activity and selective upregulation in LV myocardium from patients with end-stage dilated cardiomyopathy. *Circulation*. 1998 ;97:1708-1715.
34. Spinale FG, Coker ML, Heung LJ, Bond BR, Gunasinghe HR, Etoh T, Goldberg AT, Zellner JL, Crumbley AJ. A matrix metalloproteinase induction/activation system exists in the human left ventricular myocardium and is upregulated in heart failure. *Circulation*. 2000 ;102:1944-1949.
35. Li YY, Feng Y, McTiernan CF, Pei W, Moravec CS, Wang P, Rosenblum W, Kormos RL, Feldman AM. Downregulation of matrix metalloproteinases and reduction in collagen damage in the failing human heart after support with left ventricular assist devices. *Circulation* 2001;104:1147-1152
36. Yan AT, Yan RT, Spinale FG, Afzal R, Gunasinghe HR, Arnold M, Demers C, McKelvie RS, Liu PP. Plasma matrix metalloproteinase-9 level is correlated with left ventricular volumes and ejection fraction in patients with heart failure. *J Card Fail*. 2006 ;12:514-519.