

Título: Respuesta endotelial por eco Doppler braquial en pacientes chagásicos en período crónico sin patología demostrable bajo tratamiento con IECA y Estatinas

Autores: ^{1,2} Mitelman J; ^{1,2} Giménez L; ¹ Palacios K; ¹ Tomasella M; ^{1,2} Acuña L Avayú D¹

¹Unidad de Cardiología del Hospital Municipal de Agudos Teodoro Álvarez. ² Instituto de Ciencias de la Salud – Facultad de Medicina - Fundación Barceló, Buenos Aires.

Resumen y palabras claves

Título: Respuesta endotelial por eco Doppler braquial en pacientes chagásicos en período crónico sin patología demostrable bajo tratamiento con IECA y Estatinas

Introducción: Diversos estudios sugieren compromiso microvascular endotelial en el Chagas con cambios en las células miocárdicas que favorecen la progresión de la enfermedad. Celermajer y colaboradores utilizaron la prueba de isquemia por ultrasonografía braquial como método diagnóstico de lesión endotelial en diversas enfermedades, con excelente sensibilidad, especificidad y valor predictivo. Recientes estudios han señalado que las estatinas mejorarían la lesión endotelial al igual que los IECA.

Objetivos: El propósito del trabajo fue determinar la respuesta endotelial mediada por flujo con eco-Doppler braquial (DB) en pacientes chagásicos en período crónico sin patología demostrable tratados con IECAS y estatinas (con respuesta vasodilatadora disminuida).

Material y métodos: Se incorporaron 220 pacientes de ambos sexos edad promedio 43 años. A todos se les realizó serología para Chagas (tres reacciones), examen clínico, análisis de laboratorio, ECG, Rx de tórax, eco cardíaco y ultrasonografía Doppler braquial (basal, postcompresión y con nitritos). Se excluyeron pacientes con factores de riesgo cardíaco. **Métodos Estadísticos:** El análisis univariado de las tablas de contingencia de 2 x 2 se efectuó con la técnica de chi cuadrado o de Fisher, según correspondiera. El análisis de datos cuantitativos de más de dos grupos se efectuó empleando ANOVA de una vía (Tukey post-hoc-test).

Se empleó la técnica de correlación no paramétrica de Spearman a efectos de analizar asociaciones univariadas.

El estudio multivariado incluyó las técnicas de análisis de la función discriminante (tomando como variable dependiente la presencia de anomalías en las respuestas vasodilatadoras) y de regresión múltiple (método cuasi-Newton; máxima verosimilitud). En todos los casos se consideró significativo todo valor de $p < 0,05$, dos colas.

El seguimiento fue durante 6 meses con controles Doppler braquial al inicio y al finalizar y seguimiento clínico y de laboratorio bimestral. Se dividieron los pacientes en cuatro grupos: G I 39 pacientes con placebo; G II 68 pacientes que recibieron quinapril GIII 59 (quinapril+sinvastatina) y GIV 54 con simvastatina.

Resultados: se registró un incremento de la dilatación mediada por flujo en el 33 % de los pacientes del G III, 24 % del G II y 17% del G IV (de los 185 que completaron los 6 meses de seguimiento y tratamiento no hubo diferencias por edad ni por sexo). La respuesta en el Doppler braquial fue significativa en los grupos tratados $P < 0,05$. El diámetro arterial braquial y el incremento de velocidad de flujo fueron superiores en todos los grupos de tratamiento frente al grupo control. **Conclusiones** En el período crónico sin patología demostrable (ex Indeterminados) el estudio de la alteración endotelial por eco Doppler braquial constituiría una herramienta de diagnóstico, seguimiento y tratamiento aunque por el momento no podemos determinar pronóstico con la misma.

El tratamiento combinado entre IECAS y Simvastatina abriría posibilidades terapéuticas en esta enfermedad.

Palabras claves: Chagas, período crónico sin patología demostrable(ex indeterminado) eco Doppler braquial, Simvastatina, Quinapril, IECA

(Summary)

Title: Endothelial response assessed by brachial echo Doppler in Chagasic patients in chronic period without demonstrable pathology under treatment with ACE inhibitor drugs and Statins

Writers: ^{1,2} Mitelman J; ^{1,2} Giménez L; ¹ Palacios K; ¹ Tomasella M; ^{1,2} Acuña L

Introduction: There is some published evidence suggesting microvascular endothelial involvement in Chagas' disease in association with cardiomyocyte changes favoring disease progression. Celemajer et al. used the brachial artery ultrasonography to determine the endothelial dysfunction in several diseases, with excellent sensitivity, specificity and predictive value. Recent studies have shown that statins and ACE inhibitor drugs would improve the endothelial impairment.

Objectives: The purpose of the study was to assess the endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery in chagasic patients in chronic period without demonstrable pathology treated with ACE inhibitor drugs and statins (with diminished vasodilatory response).

Material and Methods: We enrolled 220 patients of both sexes (mean age 43 years old) with Chagas' disease (ex undetermined phase). The whole population was submitted to serological tests specific for Chagas' disease (3 different determinations), physical examination, clinical laboratory test ECG, chest-X-ray studies, echocardiography and brachial BED (basal and post-compression). Patients with cardiac risk factor were excluded. All data were submitted to statistical analysis: chi square test and multiple logistic regression.

Statistical methods: the univariate analysis of 2 x 2 contingency table was made with the chi-square test or Fisher's test. The quantitative data analysis of more than two

groups was studied by means of an analysis of variance (ANOVA of a route) (Tukey post-hoc-test).

The non-parametric Spearman's rank correlation was used to measure univariate associations. The study included the discriminant function analysis (taking as dependent variable the presence of anomalies in the vasodilatory response) and multiple regression analysis (quasi-Newton method; maximum likelihood). In every cases, the $p < 0,05$ value was considered significant.

During the 6 month follow-up, brachial echo Doppler controls at the beginning and at the end, clinical follow-up and bimonthly laboratory examination were made. The patients were divided in four groups: G I 39 patients with placebo; G II 68 patients who received quinapril, GIII 59 (quinapril+simvastatin) and GIV 54 with simvastatin.

Results: an increase in the flow- mediated dilatation (33.% in G III, 24% in G II, and 17% in G IV) was registered. There were no differences by age or sex in the 185 patients who completed the 6 months of follow-up and treatment. The response in the brachial echo Doppler was significant in treated groups $P < 0,05$. The brachial artery diameter and the increase flow velocity were superior in the treatment groups in comparison with the group control.

Conclusions: In the chronic period without demonstrable pathology (ex- Undetermined patients) the study of the endothelial dysfunction by brachial echo Doppler would constitute a tool of diagnosis, follow-up and treatment although at the moment we cannot determine a prognosis with it. The combined treatment between ACE inhibitor drugs and Simvastatin would open therapeutic possibilities in this disease.

Key words: Chagas' disease – Brachial echo-Doppler - – Endothelial impairment – Chronic period without demonstrable pathology (ex Undetermined phase)– Simvastatin – Quinapril – ACE inhibitor drugs

Introducción: Los pacientes con miocardiopatía chagásica crónica presentarían anomalías en la vasomoción coronaria micro vascular y epicárdica por disfunción del endotelio vascular. Esta alteración fue descrita entre otros por nuestro grupo, con eco Doppler braquial y factor de Von Willebrand (1) y el del Dr. Harry Aquatella mediante la realización de test de acetilcolina a pacientes chagásicos en diferentes estadios (2).

Todas estas evidencias sugerirían que las alteraciones miocárdicas ocurren por una necrosis celular aditiva y progresiva iniciada y perpetuada por alteraciones en la micro circulación miocárdica. (3,4,5,6)

Simultáneamente habría un desequilibrio autonómico consistente en disfunción simpática y parasimpática en los pacientes chagásicos, que predispondría a sus arterias coronarias a un estímulo constrictor. La importancia clínica de estos hallazgos radicaría

en relacionarlos con los síntomas de angina referidos por los pacientes y en su contribución hacia el avance a miocardiopatía chagásica crónica, de los pacientes que posean esta anomalía de la vasomoción en la fase crónica sin evidencia de patología. (7,8,9,10).

Celermajer y colaboradores utilizaron la prueba de isquemia por ultrasonografía braquial como método diagnóstico de lesión endotelial en diversas enfermedades, como la aterosclerosis, en factores de riesgo cardiovasculares y en otros procesos en los cuales la función endotelial está perturbada, con excelente sensibilidad, especificidad y valor predictivo (11,12,13). Recientes estudios han señalado que las estatinas mejorarían la lesión endotelial mediante acciones antioxidantes y antiinflamatorias al aumentar la actividad y expresión de la óxido nítrico sintetasa endotelial que se traducirían en la mejoría de la función vascular.(14) Los IECA también en diversos estudios han evidenciado la atenuación de la lesión endotelial. (15,16,17)

Objetivo:

El propósito del trabajo fue determinar la respuesta endotelial mediada por flujo con eco-Doppler braquial (DB) en pacientes chagásicos en período crónico sin patología demostrable (ex indeterminados) tratados con IECAS y estatinas (con respuesta vasodilatadora disminuida).

Material y Métodos

Población- estudio descriptivo observacional. Se incorporaron 220 pacientes de ambos sexos, edad promedio 43 años (Ver tabla 1) con serología positiva para Chagas 3 reacciones positivas (en período crónico sin patología demostrable ex indeterminados) según criterios del Instituto Nacional de Parasitología Dr. Mario Fatala Chaben (reacción de hemoaglutinación Indirecta positiva con títulos > 1/32, método de ELISA positivo y la prueba de inmunofluorescencia positiva con títulos > 1/32), examen clínico (Tensión arterial (TA) en reposo y sentado (se tomó el promedio de 2 mediciones) análisis de laboratorio completo (hepatograma incluido), electrocardiograma, radiografía de Tórax, Holter, ecocardiograma y ultrasonografía Doppler braquial (basal, postisquemia, postnitritos).

El estudio implicó la recolección de los datos en un cuestionario simple (CRF).

Previo al ingreso al estudio durante 2 semanas antes se indicó quinapril 10 mg para ver tolerancia, presencia de efectos adversos e hipotensión (TA sistólica < 100 mmhg).

La recolección de los datos se realizó durante la visita de inicio y las de seguimiento a los 3 y 6 meses respectivamente.

Los exámenes se efectuaron por la mañana, en ayunas, en condiciones de temperatura estables, con reposo previo durante 10 min. como mínimo y sin suspender la medicación seguida.

Criterios de exclusión

- Pacientes incapacitados mentalmente para comprender y firmar el consentimiento informado.
- Pacientes incapaces de cumplir con las visitas de seguimiento.
- Participación concomitante en otro estudio clínico.

- Pacientes que podrían cambiar de médico en el transcurso del estudio.
- Pacientes embarazadas o en período de lactancia.
- Pacientes hospitalizados o institucionalizados.
- Paciente que no acepte firmar el consentimiento informado.
- Los individuos que presentaron
- hipertensión arterial (según guías de la OMS /SIH 1999 modificado por el Joint Nacional Comitte VII (guidelines for the Management of arterial hypertension) para mayores de 18 años) una Presión Sistólica de 140-159 mm Hg y una presión diastólica de 90-99 mm Hg reevaluado dentro de un período de 2 meses.
- dislipemia (Colesterol total >240, LDL >140, HDL <40, triglicéridos > 200mg/dl); obesidad (considerando un Body Mass Index superior a 35), tabaquismo, miocardiopatías, insuficiencia cardíaca, alcoholismo, endocrinopatía u otro tipo de enfermedad con repercusión renal (nefropatías, insuficiencia renal, hematuria, infección urinaria).

Descripción de procedimientos diagnósticos

Prueba de isquemia braquial por ultrasonografía (FIG I)

Se utilizó un ecocardiógrafo marca General Electric Logic 400 MA. Con un transductor de 7,5 MHz se midió el diámetro y el flujo de la arteria humeral basal y posisquemia por compresión (con el mango del tensiómetro insuflado hasta 200 mm Hg en el antebrazo a 2 cm del pliegue del codo) durante tres minutos. Luego de desinsuflar el mango se midió a los 15 y a los 30 segundos y al minuto, tanto el diámetro como el flujo (respuesta endotelio dependiente). Luego de 15 minutos de reposo se administraron 200 µg nitrito sublingual y se midieron el diámetro y el flujo prenitritos y postnitritos como indicador de la vasodilatación independiente del endotelio (método de Celermajer) a los 3 minutos.

Se consideraron anormales respuestas del diámetro de la arteria inferiores al 10% del basal.

Métodos Estadísticos

El análisis univariado de las tablas de contingencia de 2 x 2 se efectuó con la técnica de chi cuadrado o de Fisher, según correspondiera. El análisis de datos cuantitativos de más de dos grupos se efectuó empleando ANOVA de una vía (Tukey post-hoc-test).

Se empleó la técnica de correlación no paramétrica de Spearman a efectos de analizar asociaciones univariadas.

El estudio multivariado incluyó las técnicas de análisis de la función discriminante (tomando como variable dependiente la presencia de anomalías en las respuestas vasodilatadoras) y de regresión múltiple (método cuasi-Newton; máxima verosimilitud). En todos los casos se consideró significativo todo valor de $p < 0,05$, dos colas.

El seguimiento fue durante 6 meses con controles Doppler braquial al inicio y al finalizar y seguimiento clínico y de laboratorio bimestral. Se dividieron los pacientes en cuatro grupos al inicio G I 39 pacientes con placebo; G II 68 pacientes que recibieron quinapril 10 mg; G III 59 pacientes que recibieron quinapril 10 mg y simvastatina 10 mg y un G IV grupo de 54 pacientes que recibió solamente 10 mg de simvastatina.

En el presente trabajo fueron resguardados los requisitos éticos y legales contemplados en la declaración de Helsinki y su actualización de Tokio en 1975. Se obtuvieron el consentimiento escrito, libre e informado de los pacientes.

Resultados (Fig. II; Tabla II)

- Registramos un incremento de la dilatación mediada por flujo del 33 % en el G III 24 % en el G II y 17% en el G IV. No hubo diferencias por edad ni por sexo. La respuesta en el Doppler braquial fue significativa en los grupos tratados $P < 0,05$. El diámetro arterial braquial y el incremento de velocidad de flujo fueron superiores en todos los grupos de tratamiento frente al grupo control, y la velocidad de flujo fue más elevada, con IECA o estatinas.
- En el análisis univariante, las estatinas lograron un efecto normalizador menos potente que los IECA en el DB.
- El quinapril asociado a simvastatina demostró mejor resultado que utilizados como monoterapia.
- La simvastatina en combinación con el quinapril mejoró la dilatación mediada por flujo en mayor medida que la monoterapia (para todos $p < 0,001$ por Anova).
- La respuesta a la nitroglicerina fue similar en los tres grupos tratados.
- La terapia única o combinada tuvo buena tolerancia.
- La tasa de abandonos fue del 16 % (35 pacientes). 5% por intolerancia al quinapril (tos) 1% por intolerancia a la simvastatina (dolores musculares). El resto abandonó el estudio por causas ajenas al tratamiento.

Discusión: Algunos autores han postulado la acción de la neuraminidasa del tripanosoma Cruzi, que actuaría removiendo los grupos de ácido siálico electronegativos de los fosfoesfingolípidos de membrana (los cuáles normalmente facilitan el flujo sanguíneo por rechazo electrostático) (18) aumentando la resistencia al flujo y alterando el estado normal de la micro circulación.

Este daño o perturbación del endotelio, secundaria a la pérdida de ácido siálico, no sólo dificultaría la micro circulación sino que predispondría a la trombosis al incrementar la viscosidad y agregación plaquetaria.

Otros autores han informado que el endotelio respondería a la acción de citoquinas inflamatorias alterando la producción del óxido nítrico (ON) el que podría tener una acción vinculante con la patogénesis chagásica. (19)

Cualquiera sea el mecanismo original, provocada la alteración endotelial, aumentaría la reactividad plaquetaria y la interacción plaqueta-célula endotelial, produciéndose modificaciones en las proteínas estructurales, disturbios bioquímicos en la trasducción de señales con cambios en la proliferación y función celular y respuestas inflamatorias. Una vez establecida la lesión en la micro circulación, la isquemia produciría miocitólisis, reemplazando el tejido cardíaco por fibrosis. La agregación plaquetaria, la micro trombosis y el contacto entre linfocitos y células endoteliales contribuirían a la progresión de la enfermedad. De lo antedicho surge que la evaluación de la activación y deterioro endotelial constituirían una herramienta útil para su posterior tratamiento. Nuestros hallazgos son similares a los de otros autores en cuanto al beneficio del tratamiento con IECAS en las perturbaciones del endotelio. (15,16,17) En cuanto a las estatinas han evidenciado sus beneficios en otras patologías como las coronarias,

factores de riesgo y aun en la artritis reumatoidea por sus efectos antiinflamatorios e inmunomoduladores, pero con dosis muy superiores a las aplicadas por nuestro grupo. (14)

En el Chagas se producen alteraciones inmunitarias (8,9,20,21) que desempeñarían un importante papel en el comienzo y evolución de la misma. Los anticuerpos alterarían los flujos iónicos de las membranas celulares cardíacas con lesiones irreversibles.

Posiblemente su efecto beneficioso en esta patología se debería buscar en los efectos inmunomoduladores de las estatinas

No podemos dejar de señalar que si bien la activación endotelial está presente en un importante número de pacientes en período crónico sin patología demostrable, no se ha podido determinar si la misma siempre conduce a estadios evolutivos más avanzados. Sin embargo creemos que si se logra detener la progresión de la activación endotelial habremos logrado un nuevo avance para el control de la enfermedad. Seguramente se deberá actuar simultáneamente con medicación parasiticida para evitar nueva agresión parasitaria.

Conclusiones En el período crónico sin patología demostrable (ex Indeterminados) el estudio de la alteración endotelial por eco Doppler braquial constituiría una herramienta de diagnóstico, seguimiento y tratamiento aunque por el momento no podamos determinar pronóstico con la misma.

El tratamiento combinado entre IECAS y Simvastatina abriría posibilidades terapéuticas en esta enfermedad.

Estudios prospectivos de mayor número de sujetos deberán aclarar la real prevalencia de alteraciones de la función endotelial en chagásicos así como los beneficios de la utilización de terapéuticas combinadas con IECAS y Estatinas.

Bibliografía

- 1) Mitelman J, Gimenez L, Gonzalez C y Col. Asociación entre disfunción endotelial por prueba de isquemia braquial con eco Doppler Braquial y factor de Von Willebrand en la enfermedad de Chagas. Rev. Argent Cardiol 2001;69:274-279
- 2) Acquatella H Discurso de recepción del Dr. Harry Acquatella a la Academia Nacional de Medicina. Gac. Med. Caracas 2003;111:161-160
- 3) Mengel JO, Rossi MA. Chronic chagasic myocarditis pathogenesis dependence of autoimmune and microvascular factors. Am Heart J. 1992;124:1052-1057.
- 4) Redruello M, Masoli O, Perez Baliño N y col Endothelial dysfunction in Chronic Chagas disease. Assessment with 99 mTc sestamibi Spect cold pressor test and intracoronary acetylcholine. J Necl. Cardiol 2003;10:9-26
- 5) Torres FW, Acquatella H, Condado JA, Dinsmore R, Palacios IF. Coronary vascular reactivity is abnormal in patients with Chagas' heart disease. Am Heart J 1995;129:995-1001.
- 6) Flávio C. Hiss, Thiago F. Lascala Changes in Myocardial Perfusion Correlate With Deterioration of Left Ventricular Systolic Function in Chronic Chagas' Cardiomyopathy J. Am. Coll. Cardiol. Img ; 2: 164 - 172.

- 7) Mitelman J, Gimenez L, Manzullo E y Col. Utilización de métodos diagnósticos incruentos para la detección de lesiones miocárdicas en el período indeterminado de la infección chagásica crónica. Rev Argent Cardiol 2000;6:797-802.
- 8) Gimenez L; Mitelman J, Sterin Borda y col. anticuerpos antireceptores autonomicos ,alteraciones de la variabilidad de la frecuencia cardiaca y arritmias en sujetos con enfermedad de Chagas. Rev Arg. Cardiol. 2003;71:109-113
- 9) Mitelman J, Gimenez L, Palacios K y col. Anticuerpos antireceptores a neurotransmisores y su correlacion con la alteración de la dispersión del QT y de la variabilidad de la frecuencia cardiaca. Reblampa 2006;19:408-415
- 10) Iosa D. Cardioneuropatía chagásica crónica. Patogenia y tratamiento. La enf. de Chagas y el sistema nervioso. OPS 1994.6:109-159.
- 11) Celermajer D, Sorensen K, Vanda M. Non invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. Lancet 1992;340:1111-1115.
- 12) Celermajer D, Sorensen K, Bull C, Robinson J y Col. Endothelium dependent dilation in the systemic arteries of asymptomatic subjects relates to coronary risk factors and their interaccion. J Am Coll Cardiol. 1994;24:1468-1474.
- 13) Celermajer D, Sorensen K, Geogakopoulos D, Bull C, y col. Cigarette smoking is associated with dose-related and potentially reversible impairment of endothelium-dependent dilation in healthy young adults. Circulation 1993;88:2149-2155.
- 14) Tristano AG, Fuller K Immunomodulatory Effects of Statins and Autoimmune Rheumatic Diseases: Novel Intracellular Mechanism Involved. International Immunopharmacology 2006;6(12):1833-1846,
- 15) Auger S, De Rosa M; Storino S y colab Trastornos de la motilidad segmentaria cardíaca en la enfermedad de Chagas. Resultados del tratamiento con inhibidores de la enzima convertidora Rev. Conarec 2008 0605 204-212
- 16) Mancini GR, Henry GC, Macaya C. ACE Inhibition with quinapril improves endothelial vasomotor dysfunction in patients with coronary artery disease. The TREND (Trial on reversing endothelial dysfunction) study. Circulation 1996;94:258-265.
- 17) De Rosa M, Makhoul S, Castro E, Margulis F, Killinger C, Auger S, Alvarez C.B. "Función endotelial y efectos de un inhibidor de la enzima convertidora de la angiotensina en pacientes con cardiopatía chagásica crónica". Rev. Argent. De Cardiol, 2002; vol:70(3):97 (Abstract:037).
- 18) Libby P, Alroy J, Pereira ME. A neuraminidase from Trypanosoma cruzi removes sialic acid from the surface of mammalian myocardial and endothelial cells. J Clin Invest 1986;77:127-35.
- 19) Ungureanu-Longrois, Ballingand JL, Kelly RA, Smith TW. Myocardial contractile dysfunction in the systemic inflammatory response syndrome: role of a cytokine-inducible nitric oxide synthase in cardiac myocytes. L Mol Cell Cardiol 1995;27:155-167
- 20) Sterin-Borda L, Borda E. Role of neurotransmitter autoantibodies in the pathogenesis of chagasic peripheral dysautonomia. Ann N Y Acad Sci 2000;917:273-80.

- 21) Sterin Borda L, Borda E. Role of neurotransmitter autoantibodies in the pathogenesis of Chagasic peripheral dysautonomia. Neuroimmunomodulation. 1994;1:284-291

TABLA I
Pacientes chagasicos con patología crónica no demostrable
Características generales de la muestra inicial

Tratamiento	Placebo Grupo I	Quinapril Grupo II	Simvastatina Grupo III	Quinap/Simv. Grupo IV
Número de				

pacientes 220	39	68	59	54
Sexo M/F	15/14	31/25	26/23	32/29
Edad (Años)	42± 2,5	44± 2,83	41±4	39±4
TA S	110±10	115±2	115±5	115±5
TAD	75±5	75±5	75±2	77±2
Colesterol total	195±0,1	180±0,10	185±0,10	190±0,7
HDL	40±3	44±5	40±2	40±2
LDL	120±10	110±9	120±11	125±5

FIGURA I

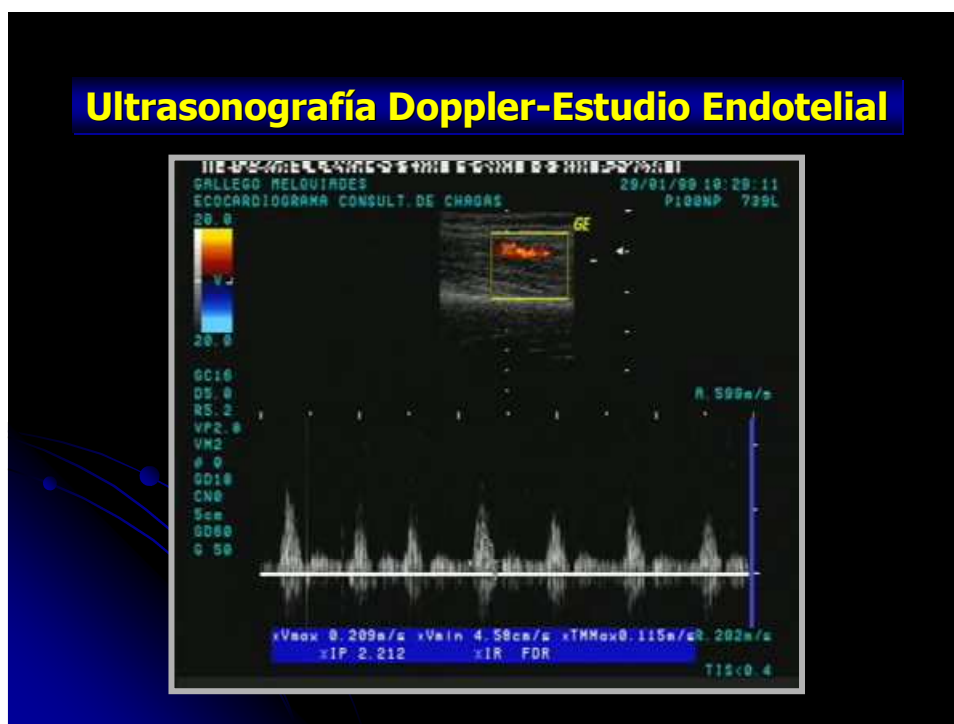


FIGURA II

Porcentaje de pacientes tratados con IECA y estatinas con incremento de la respuesta vasodilatadora post isquémica medido por Doppler Braquial

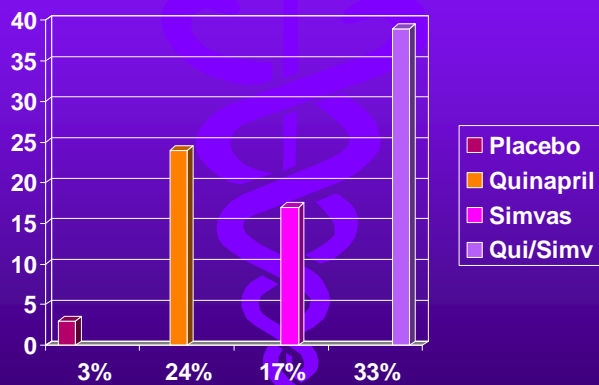


TABLA II

Vaso dilatación mediada por flujo postrespuesta a los 6 meses de tratamiento

Número de pacientes 185	Placebo (30 pts)	Quinapril (59 pts)	Simvastatina (46 pts)	Quinapril Simvastatina (50 pts)	
Respuesta VD Pretrat.	7± 2.5	7± 2	7± 1.9	7± 2.7	
Respuesta VD Post trat.	7± 2.5	11,5±0,10	11±0,5	12±0,7	P<0,05

