



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

FACULTAD DE MEDICINA

INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA

“IGNACIO CHÁVEZ”

**“MODIFICACIÓN DE LOS NIVELES EXCRETADOS POR ORINA DE
ANGIOTENSINA II Y ANGIOTENSINA-(1-7) EN PACIENTES CON
ESTENOSIS AÓRTICA GRAVE O CRÍTICA, SOMETIDOS A REEMPLAZO
VALVULAR AÓRTICO”**

TESIS DE POSGRADO PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN

CARDIOLOGÍA

PRESENTA:

DR. CESAR GERARDO LOPEZ DE LA VEGA

DIRECTOR DE ENSEÑANZA

DR. JOSE FERNANDO GUADALAJARA BOO

ASESOR:

M. C., M.C.S., D.C.S., MARTÍN ROSAS PERALTA



MÉXICO, DISTRITO FEDERAL. AGOSTO DEL 2009



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIA

Este trabajo de tesis implica el esfuerzo y sacrificio de tres años invertidos en alcanzar uno de mis sueños, completar la fase de entrenamiento en cardiología clínica en uno de los centros que a nivel mundial forman parte fundamental de la historia y evolución de esta noble rama de la medicina, el Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”.

Pero esta meta no podría haberla llevarlo a cabo sin la participación de a quienes dedico en muestra de agradecimiento, estas páginas.....

- a) Ante todo, Dios nuestro Padre Celestial, por concederme más de lo que merezco, pero principalmente la vida y la salud necesaria para llegar hasta este momento.
- b) A la Virgen Santísima, porque sin su intercesión mi vida ha sido llenada de bendiciones
- c) A mi dulce y amada esposa, Gladys Anaí, quien ha sido, es y será un ángel en mi vida y quien junto a nuestro hijo Gerardo André son la inspiración de cada día para querer ser mejor que ayer.
- d) A mis padres, Ana Claudia y César Humberto, quienes han llenado mi vida de amor y ejemplo de sacrificio.
- e) A mis hermanos Zoila Angélica, Ana Regina, Claudia María y Pablo César, que han sido un gran apoyo, elementos de alegría y orgullo de mi persona debido a sus logros personales y familiares.
- f) A mis maestros por compartir los secretos que los años de experiencia en medicina y cardiología les han permitido llegar a la cumbre de su carrera.
- g) A los pacientes que entregaron su confianza y permitieron leer en las páginas de su persona.

.....Gracias y que Dios los bendiga

Dr. César Gerardo López de la Vega

INTRODUCCIÓN

El cardiólogo se enfrenta actualmente a un repunte en la prevalencia e incidencia de valvulopatía aórtica del tipo de la estenosis, que aporta más de la tercera parte de los casos con indicación quirúrgica dentro de las grandes series en centros especializados en atención cardiovascular. Desde hace varios años se encuentra con una tendencia de predominio sobre la valvulopatía mitral debido a que la etiología reumática ha disminuido, la etiología congénita no ha modificado su patrón y las poblaciones tienden a una mayor esperanza de vida, inclusive en los países emergentes.

Existen elementos mecánicos y humorales, bien establecidos, dentro de la progresión de la estenosis aórtica. La sobrecarga hemodinámica sistólica impuesta por la obstrucción al flujo en el tracto de salida del ventrículo izquierdo inicialmente desencadena como respuesta la inducción de hipertrofia miocárdica para normalizar el estrés parietal sistólico. Existe un momento en la evolución natural de esta enfermedad en la que llega a existir un desequilibrio en la proporción adecuada de miocitos / tejido intercelular, lo que es capaz de provocar disfunción ventricular izquierda. Hemos querido aportar al conocimiento sobre la fisiopatología de la estenosis aórtica de importante repercusión hemodinámica, el comportamiento de uno de los elementos más recientemente descritos dentro del sistema renina angiotensina-aldosterona (SRAA), la angiotensina-(1-7), contrarregulador por excelencia de la angiotensina II.

Presentamos las mediciones urinarias de estos dos últimos elementos mencionados, como reflejo del comportamiento del SRAA tisular miocárdico, en un estudio del tipo de casos y controles. Nuestro estudio abarcó pacientes con indicación quirúrgica debido a repercusión hemodinámica importante de la estenosis aórtica y sin elementos inductores de actividad del SRAA sistémico, comparándose contra dos grupos control: pacientes en su período posoperatorio tardío de cambio valvular aórtico con características clínicas similares al momento previo de su reemplazo valvular, y otro grupo control de personas sanas.

ÍNDICE

| CONTENIDO | Página |
|--------------------------------------|--------|
| I. TÍTULO | 1 |
| II. SUBTÍTULO | 1 |
| III. MARCO TEÓRICO | 2 |
| IV. MARCO CONCEPTUAL | 11 |
| 4.1. Pregunta de Investigación | 11 |
| 4.2. Hipótesis | 11 |
| 4.3. Objetivos | 13 |
| 4.5. Planteamiento y Justificación | 14 |
| V. MARCO METODOLÓGICO | 17 |
| 5.1. Tipo de Estudio | 17 |
| 5.2. Delimitación temporal | 17 |
| 5.3. Unidad de Análisis | 18 |
| 5.4. Criterios de Inclusión | 19 |
| 5.5. Criterios de Exclusión | 19 |
| 5.6. Criterios de Eliminación | 20 |
| 5.7. Operacionalización de Variables | 21 |
| 5.8. Procedimiento | 22 |
| VI. RESULTADOS | 25 |
| VII. ANÁLISIS DE RESULTADOS | 41 |
| VIII. CONCLUSIONES | 47 |
| IX. RECOMENDACIONES | 49 |
| X. BIBLIOGRAFÍA | 50 |

I. TITULO

“Modificación de los Niveles Excretados por Orina de Angiotensina II y Angiotensina-(1-7) en Pacientes con Estenosis Aórtica Grave o Crítica, Sometidos a Reemplazo Valvular Aórtico”

II. SUBTITULO

Determinación Realizada Comparando Pacientes con Estenosis Aórtica de Importante Repercusión Hemodinámica y dos Grupos Control: Pacientes Sanos y Pacientes en Estado Postquirúrgico Tardío. Todos los Grupos sin otros Factores de Activación del Eje Renina Angiotensina Sistémico.

III. MARCO TEORICO

La estenosis aórtica (EAo) es una de las valvulopatías más frecuentes, (1) en los últimos años ha conservando un patrón estable en su prevalencia como enfermedad de etiología congénita pero ha aumentando el número de pacientes que tienen una etiología degenerativa de la enfermedad secundario a la mayor expectativa de vida dentro de la población. (1,2) El pivote inicial de su fisiopatología concierne a la sobrecarga sistólica que se impone al ventrículo izquierdo debido a la obstrucción del flujo de salida a nivel inferior o superior del plano valvular, o por estrechez del área valvular misma. La cronicidad de esta sobrecarga hemodinámica produce remodelación ventricular que resulta inicialmente en la normalización del estrés parietal sistólico, pero posteriormente en cambios inadecuados que se describirán con más detalle en párrafos posteriores. (3)

El segundo elemento importante en la evolución natural de la enfermedad por EAo es el llamado eje o sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), el cual se considera como una cascada endocrina compleja que funciona además como vía autocrina/paracrina y que modula varias funciones cardiovasculares que rondan en la homeostasis hemodinámica. La fase endocrina de este sistema involucra a la renina, que es producida y liberada por el complejo yuxtaglomerular. La renina rompe el enlace de la región aminoterminal de la prohormona angiotensinógeno, una alfa-2 globulina producida constitutivamente en varios tejidos y liberada a la circulación principalmente por el hígado. Se obtiene entonces la prohormona angiotensina I (Ang I), sobre la cual la enzima convertidora de

angiotensina (ECA) o las quimasas tisulares remueven 2 aminoácidos más para obtener el octapéptido-hormona, angiotensina II (Ang II), que actúa principalmente sobre los receptores de angiotensina tipo 1 (AT1R, por sus siglas en inglés), los cuales poseen un potente efecto vasopresor y estimulante de la hipertrofia miocárdica y proliferación fibroblástica en el miocardio, capilares renales y vasculatura pulmonar. La Ang II interactúa en menor magnitud con otros dos receptores bien definidos: los receptores de angiotensina tipo 2 (AT2R) y tipo 4 (AT4R), el primero de los cuales parece tener efectos negativos en la hipertrofia y proliferación miocárdica, así como en la regeneración neuronal (4); mientras la acción mediada por Ang II después de convertirse a Ang IV en los AT4R parece estar relacionada con procesamiento sensorial y motor en las regiones cerebrales específicas, con funciones inciertas en otros tejidos como el corazón, células musculares lisas vasculares, riñón, colon y próstata, en donde se ha detectado (5).

Las altas concentraciones de Ang II junto a endotelina, aldosterona y el sistema neuroadrenérgico se potencian entre sí a través del tiempo para promover efectos tóxicos y tróficos en el tejido miocárdico, desencadenando disfunción celular y contráctil, así como alterando su viabilidad. (6,7)

Cuando el ventrículo izquierdo se somete a sobrecargas de presión o volumen, el aumento del tamaño de los cardiomiocitos se acompaña de un aumento del componente intersticial de manera más o menos equilibrada, lo cual ofrece un soporte estructural a la hipertrofia miocárdica, y esto permite de manera inicial aumentar la función contráctil para enfrentar la sobrecarga, sin activar la fase sistémica del eje renina angiotensina. (8)

Si bien se considera que esta fase sistémica del SRAA no se encuentra activada, debido a que se conserva un gasto cardiaco normal y el flujo renal es adecuado, la fase local tisular sí que se encuentra activa. Aunque la producción local de renina en las células miocárdicas aún es una controversia, se encuentra bien documentado el aumento de la concentración miocárdica a través de la simple difusión o por receptores específicos vasculares para este péptido (9). Existen reportes que describen expresión aumentada de RNAm de la ECA en los cardiomiocitos de pacientes con EAo,(10) así el propio tejido muscular cardiaco se propone como sintetizador y liberador de angiotensinógeno y angiotensina II, en respuesta al estrés mecánico.(11) El estímulo autocrino/paracrino de la angiotensina favorece la actividad inversa del intercambiador sodio-calcio, a través de la estimulación del intercambiador sodio-hidrógeno, con lo que aumenta la concentración de calcio intracelular y la actividad de enzimas calcio dependientes como la calcineurina, favoreciendo la activación de factores de conversión que inducen la transcripción de genes que inducen la síntesis de proteínas contráctiles.(12) Esta hipertrofia adaptativa tiene una relación directa entre la masa ventricular y el grado de estenosis, logra normalizar el estrés sistólico de la pared ventricular, pero al ser excesiva presenta como primera manifestación de disfunción sistólica e inferior en la fracción de acortamiento.(13)

Como se mencionó previamente, junto a la remodelación que favorece la hipertrofia de los miocitos, se aumenta la producción de matriz extracelular, pero cuando se perpetúan los cambios ultraestructurales en los cardiomiocitos se presentan cambios que favorecen la fibrosis, un hallazgo

morfológico temprano y determinante mayor de la disfunción diastólica y falla contráctil en los pacientes con EAo. (14) .

Existen estudios que reportan la expresión aumentada de RNA del factor transformador de crecimiento Beta - 1 (TGF-B1), en los cardiomiocitos de pacientes con EAo, y es considerado como uno de los principales promotores de degeneración ultraestructural miocárdica. (10, 15). Así mismo esto se encuentra favorecido por el desequilibrio tejido/capilares, el estado proinflamatorio local inducido por la liberación de citoquinas y la activación de macrófagos tisulares. (16) y por el desequilibrio entre metaloproteinasas y sus inhibidores, así como el aumento de la proliferación de fibroblastos. (17).

Al parecer la degeneración celular está mediada principalmente por la Ubiquitina, una proteína que se une al miocárdio de los cardiomiocitos, los marca y entonces facilita la autofagia y la apoptosis, para luego ser reemplazado ese espacio por tejido fibrótico. (18, 19)

Como ejemplo de aplicación clínica, Hein y colaboradores estudiaron pacientes con EAo importante, mediante biopsia miocárdica y fracción de eyección (FE) por ecocardiografía, clasificando a los pacientes en tres grupos: FE > 50%, FE entre 50% y 30% y FE < 30%. Se observó correlación entre el porcentaje de degeneración de los miocitos y la FE, como también entre el porcentaje de fibrosis con la FE y la presión de fin de diástole del ventrículo izquierdo. El porcentaje de degeneración de los miocitos y de fibrosis estuvo significativamente aumentado en todos los pacientes con EAo, incluidos los pacientes que tenían FE > 50%, como los que integran el presente estudio. Luego del reemplazo valvular aórtico, la FE se normalizó en los dos primeros grupos de pacientes, pero permaneció disminuida en los

pacientes con FE < 30% , una indicación de que además de la poscarga aumentada existía daño miocárdico irreversible. Los autores concluyen que la degeneración de los miocardiocitos y la fibrosis producen primero aumento de la presión de fin de diástole y luego disminución de la FE. A nivel celular, la reducción de la función del miocardiocito ocurre cuando el mecanismo de reparación y síntesis de ADN y de Sc - 35 (*splicing factor*) están parcial o totalmente exhaustos, lo cual lleva a la muerte del mismo y a su reemplazo por fibrosis. En este proceso estarían involucradas citocinas como el factor de crecimiento tumoral y el sistema renina angiotensina- aldosterona. (18)

Además, la Ang II no parece estar implicada solamente en la progresión de la hipertrofia apropiada a inapropiada, sino que también en la progresión de la estenosis valvular en los casos relacionados con degeneración y calcificación de la misma, estableciendo algunos autores que dicha progresión tiene la misma base inflamatoria crónica de la aterosclerosis. (20, 21)

En respuesta a la activación del SRAA, se incrementa la expresión genética y proteínica de contrarreguladores como las quimasas, que se han tipificado en enzima convertidora de angiotensina tipo 2 (ECA2) y/o la endopeptidasa neutra (NEP), que disminuyen la concentración de Ang II a través de su hidrolización a angiotensina-(1-7) [Ang-(1-7)] ,(22) cuyos efectos aparecen descritos de manera experimental desde hace un poco más de dos décadas y su involucro en humanos desde hace 18 años. (23, 24)

La ECA2 también influye en la concentración de Ang II de manera indirecta, al disminuir su concentración por medio de la hidrolización de la Ang I y obtener angiotensina-(1-9) [Ang-(1-9)]. (22, 25) La ECA2 también

ejerce efectos catalíticos sobre otros sustratos como los péptidos vasoactivos: neotensina, apelinas (relacionada con aumento de gasto cardíaco y contractilidad), kinetensina y la des-Argbradisinina (péptido expresado en procesos inflamatorios e isquémicos). Favorece la degradación de opioides endógenos con efectos protectores en el sistema nervioso central por la disminución del tono adrenérgico. (26)

La ACE2 se ha encontrado en células endoteliales, miocardiocitos, células de músculo liso y en macrófagos, expresándose principalmente en corazón, riñón, testículos e intestinos, con menos proporción en otros tejidos. (26) La Ang-(1-7) media una gran gama de procesos a través de su receptor específico, el producto del oncogén *mas* (MAS), el cual se encuentra acoplado a la proteína G. (22,23,27)

Dentro de los efectos de la Ang-(1-7) descritos hasta el momento se encuentran:

* Aumento de la síntesis de óxido nítrico (ON) a través de la estimulación de la ON sintetasa, efecto mediado por la vía Akt, con los efectos benéficos conocidos de l ON: vasodilatación, inhibición de agregación plaquetaria, modulación de la contracción y proliferación vascular. (28)

* Reacción cruzada con el receptor de angiotensina tipo 2 (AT2R), ejerciendo efectos contrarios a los AT1R. (22)

* Disminuye la liberación de norepinefrina desde el hipotálamo, disminuyendo el tono simpático sistémico y obteniendo un efecto antihipertensivo. (29)

* Junto a las acciones mediadas por su receptor MAS, puede inhibir la vía MAPK, que provoca una disminución en la síntesis de proteínas en los cardiomiocitos post infarto. (30)

* Se le han atribuido propiedades antiangiogénicas, antitrombóticas y antitumorales. (31, 32)

* Probablemente favorezca la sensibilidad a la insulina en los tejidos vascular y miocárdico, mediante las vías JAK2, el receptor de sustrato de insulina y la vía Akt . (33)

El papel de la ECA2 y la Ang-(1-7) se ha estudiado en personas sanas y en varios grupos con enfermedad cardiovascular. In vivo, en el miocardio intacto, Zisman y colaboradores demostraron que la concentración tisular miocárdica de Ang 1-7 se encuentra en proporción directa a la de Ang II. (34) Esta relación se mantiene después de una lesión, documentándose aumento de la expresión de ACE2 en el endotelio vascular coronario y las células miocárdicas que rodean la zona de lesión tisular como en el infarto, relacionándose con un efecto antiinflamatorio local. (35) En modelos experimentales de expresión inducida de ACE2 en fibroblastos de miocardio de ratas infartadas o la unión de Ang-(1-7) sintetizada de manera paracrina, a receptores específicos en fibroblastos miocárdicos, se relaciona con la atenuación de la producción de colágeno inducida por hipoxia y la disminución de la concentración de citocinas inflamatorias, especialmente el factor transformador del crecimiento tipo beta. (34, 35)

En el grupo ampliamente estudiado de pacientes hipertensos se han encontrado múltiples hallazgos. Existe una mayor expresión y actividad de ACE2 en los macrófagos de personas prehipertensas, sugiriendo un probable efecto protector a través de la degradación del vasopresor Ang II. (38) Ferrario y cols. documentaron una correlación directa de 2.5:1 en el valor de Ang-(1-7) urinaria versus la concentración sérica para un grupo de personas

normotensas en contraste con un grupo de pacientes hipertensos esenciales no tratados, en quienes documentaron una disminución significativa en los niveles urinarios de Ang-(1-7). (39) Esta paradójica disminución en las concentraciones urinarias de Ang-(1-7) de pacientes hipertensos puede estar en relación a una menor expresión actividad de la ACE2 en los capilares renales de los pacientes hipertensos (40)

En los pacientes con insuficiencia cardíaca hay evidencia de que aumenta la concentración de Ang-(1-7), por la sobreactividad de ACE2 en los cardiomiocitos,(41) asociada a un aumento de la fracción soluble de ACE2 que intenta ser un factor compensador directamente proporcional al grado de deterioro de la función sistólica.(42) La falta de expresión de ECA2 en corazones de ratas knockout, se relaciona con dilatación ventricular y falla contráctil. (43)

De manera experimental Langeveld y cols reportan que la infusión de Ang-(1-7) atenúa la formación neointimal, en stents implantados en ratas, además de mejorar la función endotelial (44)

Estas y otras observaciones han hecho que los investigadores también volteen la mirada hacia la modulación del SRAA, desde la contraparte ACE2. De esto surgen ideas como la combinación de antagonistas de los receptores de angiotensina II (ARAlI) e inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (IECA) pues se sospecha que tenga una probable potenciación mayor de la actividad de la ECA2 , especialmente en las células miocárdicas.(45) También se encuentra en fases de desarrollo técnicas para incluir como terapia génica o proteómica para la hipertensión arterial y otras enfermedades cardiovasculares, la modificación de la expresión inducida de

la ECA2. (46, 47) Benter y cols, han investigado en fechas recientes el uso de un análogo de Ang-(1-7), el AVE-0991 aplicado a un modelo de ratas con diabetes inducida, logrando una disminución en la proteinuria y la prevención de la respuesta vasculorrenal anormal a la epinefrina, endotelina 1, Ang II, carbacol e histamina infundidas en los capilares mesentéricos así como en las arterias renales y carotídea (48)

Aparte de los efectos benéficos de la ACE2, la sobreexpresión de ACE2 en un modelo transgénico se relacionó con la alteración en pasos de la morfogénesis cardíaca posiblemente a través de su unión a integrinas.(22) Así mismo en un modelo de ratas se documentó que la conversión de Ang I en Ang-(1-9), provocó efectos deletéreos en los corazones de estos animales, aunque el efecto de la Ang-(1-9) no se ha podido determinar en el corazón y riñón humanos.(49) Ahora bien la sobreexpresión de ACE2 en el miocardio insuficiente, tiene efectos antiarrítmicos siempre y cuando su concentración tisular sea menor a la diezmillonésima parte de mol, pues concentraciones mayores favorecen la aparición de post-potenciales tempranos (50)

IV. MARCO CONCEPTUAL

4.1. PREGUNTA DE INVESTIGACION

Cuáles son las concentraciones urinarias de angiotensina-(1-7) y de angiotensina II, como evidencia de su participación de la fisiopatología de la estenosis aórtica en su estadio de importante repercusión hemodinámica, sin falla contráctil miocárdica. Y cuál será la concentración de estas sustancias en pacientes postoperados de cambio valvular aórtico con una evolución adecuada a largo plazo.

4.2 HIPOTESIS

4.2.1. Hipótesis Nulas.

No existe diferencia significativa en los niveles excretados por orina de angiotensina-(1-7) y angiotensina-II de pacientes con estenosis aórtica de importante repercusión hemodinámica sin disfunción contráctil del ventrículo izquierdo, en comparación con sujetos normales y sujetos de similares características clínicas sometidos a cambio valvular aórtico en su postquirúrgico tardío.

No existe diferencia significativa en los niveles excretados por orina de angiotensina-(1-7) y angiotensina-II de pacientes en el postquirúrgico tardío de cambio valvular aórtico por estenosis de importante repercusión

hemodinámica sin disfunción contractil del ventrículo izquierdo, en comparación con sujetos normales.

4.2.2. Hipótesis Alternas

Los niveles urinarios de angiotensina-(1-7) y angiotensina-II en pacientes con estenosis aórtica de importante repercusión hemodinámica, con función sistólica normal del ventrículo izquierdo tienden a ser diferentes en comparación con sujetos normales y en comparación con sujetos post cambio valvular aórtico en su postquirúrgico tardío.

Los niveles urinarios de angiotensina-(1-7) y angiotensina-II de pacientes en el postquirúrgico tardío de cambio valvular aórtico por estenosis de importante repercusión hemodinámica, con función sistólica normal del ventrículo izquierdo tienden a ser diferentes en comparación con sujetos normales.

4. 3. OBJETIVOS DEL ESTUDIO

4.3.1. GENERAL

Establecer si existe diferencia en las concentraciones urinarias de angiotensina-(1-7) y angiotensina-II de pacientes con estenosis aórtica de importante repercusión hemodinámica y sin disfunción contractil del ventrículo izquierdo, en comparación con sujetos normales y con sujetos sometidos a reemplazo valvular aórtico en condiciones de sobrecarga hemodinámica similar al grupo de casos.

4.3.2. ESPECIFICOS

- Cuantificar los niveles urinarios de angiotensina-(1-7) y angiotensina II en el momento prequirúrgico de un grupo de pacientes con estenosis aórtica de importante repercusión hemodinámica (muestra A), en un grupo de controles normales (muestra B) y en un grupo de pacientes ya sometidos a cambio valvular aórtico, con un intervalo al menos de 18 meses desde el evento quirúrgico (muestra C).
- Determinar si existe diferencia entre las concentraciones de angiotensina-(1-7) y angiotensina II excretados por la orina mediante la comparación de las medidas de tendencia central de cada muestra: A versus B, A versus C y B versus C.
- Establecer si la excreción urinaria de angiotensina-(1-7) y angiotensina II de los pacientes post cambio valvular aórtico en su postquirúrgico tardío es similar a los niveles urinarios encontrados en sujetos normales.

4.4. PLANTEAMIENTO Y JUSTIFICACION DEL PROBLEMA

Dentro de la fisiopatología de la estenosis aórtica, la postcarga elevada es el factor desencadenante principal, que conlleva a sobrecarga hemodinámica inductora de mecanismos compensatorios inicialmente apropiados, que de ser perpetuados, dentro de la evolución natural de la enfermedad, hacen que el sujeto caiga en disfunción contráctil del ventrículo izquierdo. (3, 6, 8,10, 13)

Se encuentra establecido que dentro de los mecanismos compensadores a la sobrecarga hemodinámica, existe una regulación a la alta en la síntesis y conversión de angiotensina I en angiotensina II de manera autocrina y paracrina en el tejido miocárdico. Este evento promueve, junto a otros factores, la formación de áreas de fibrosis en el miocardio, lo cual es un paso fundamental para que los pacientes con estenosis aórtica desarrollen disfunción contráctil. (8-13)

Ahora bien, angiotensina-(1-7) [Ang-(1-7)], una molécula recientemente descrita dentro del sistema renina angiotensina-aldosterona, y a la cual se le atribuyen propiedades contrarreguladoras de los efectos obtenidos por la angiotensina II, no tiene definido su papel en la evolución de la estenosis aórtica. Aunque se ha descrito aumento de la expresión de enzima convertidora de angiotensina tipo 2 en leucocitos de pacientes prehipertensos y por ende la mayor concentración de Ang-(1-7); así como mayor concentración de Ang-(1-7) en endotelio vascular y cardiomiocitos de pacientes infartados o con insuficiencia cardiaca, (10, 40, 41) no existe en la literatura actual estudios que determinen la concentración de Ang-(1-7) en

pacientes con estenosis aórtica con indicación quirúrgica, sin falla contráctil asociada.

Existe evidencia desde hace más de 10 años que los pacientes que se someten a cambio valvular aórtico en un momento oportuno, cambian de sobremanera la historia natural de la enfermedad. (3) Sabemos inclusive que puede existir mejoría en parámetros hemodinámicos como la recuperación de la fracción de expulsión ventricular izquierda (FEVI) inclusive en pacientes que tienen un deterioro moderado de base (FEVI entre 30 y 50%) (15), la normalización de las propiedades de relajación diastólica ventricular a través de la regresión de la hipertrofia y la regresión de la fibrosis intersticial. (18, 51)

Cabe pensar con buena lógica, que la resolución de la sobrecarga hemodinámica es la razón más importante para la mejoría en los parámetros enumerados en líneas previas. Pero consideramos de mucha importancia establecer la evidencia inicial que nos permita relacionar los cambios humorales que incumben al sistema renina-angiotensina-aldosterona y que se suponen deberán acompañar a la liberación de la sobrecarga hemodinámica posterior a la resolución quirúrgica de la estenosis.

Además de contribuir a nivel de investigación de ciencia básica, aumentando el conocimiento respecto a la fisiopatología de la estenosis aórtica, consideramos que el presente estudio podría dejar abierta la posibilidad de estudios a corto plazo, que impliquen mayor o igual complejidad, como por ejemplo: la intervención farmacológica en la modulación de la progresión de la enfermedad, o la modulación en el período postquirúrgico para favorecer a largo plazo una mejor resolución de los

parámetros de función miocárdica; tendrá la variación de niveles de Ang-(1-7) una implicación como marcador de alerta hacia el momento más oportuno de ofrecer tratamiento quirúrgico, en fin estas y otras interrogantes que pueden inducirse al ingenio del investigador médico. (52)

V. MARCO METODOLOGICO

5.1. TIPO DE ESTUDIO

El estudio pertenece al tipo analítico, de casos y controles, transversal, y ambispectivo.

5.2. DELIMITACION TEMPORAL

El período de recolección de datos se llevó a cabo de diciembre del 2007 a enero del 2009 para el grupo de casos con estenosis aórtica con indicación quirúrgica por importancia en la repercusión hemodinámica y el grupo de casos controles sanos. De octubre del 2008 a febrero del 2009 se recopiló la muestra de pacientes controles ya intervenidos quirúrgicamente por cambio valvular aórtico.

5.3. UNIDAD DE ANALISIS

* Población Diana: Pacientes de ambos géneros, de 18 a 90 años de edad, con estenosis aórtica de importante repercusión hemodinámica.

* Población de Interés: Pacientes atendidos en consulta externa o internados en los servicios de Cardiología de Adultos del Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez", sometidos a reemplazo valvular aórtico durante los meses de Diciembre del año 2007 a enero del año 2009.

* Muetra - Casos: se obtuvieron 31 sujetos con estenosis aórtica de importante repercusión hemodinámica, detectados en el momento previo a cirugía de cambio valvular y sin factores médicos asociados que modificaran el sistema renina angiotensina sistémico, como se describe en criterios de inclusión.

* Muetra – Controles: dos grupos control. El grupo de controles sanos constó de 21 pacientes mayores de edad de ambos géneros. El segundo grupo control consistió en 31 pacientes con el antecedente de estenosis aórtica de importante repercusión hemodinámica y con características clínicas similares al grupo de casos, quienes fueron intervenidos quirúrgicamente con un intervalo de tiempo al menos mayor a 18 meses.

5.4. CRITERIOS DE INCLUSION

- Pacientes de ambos géneros comprendidos entre las edades de 18 y 90 años.
- Estenosis aórtica con área valvular menor o igual a 1 cm² con fracción de expulsión del ventrículo izquierdo (FEVI) \geq 50%.
- Diámetro diastólico del ventrículo izquierdo (DDVI), dentro de límites normales (< 50mm)
- Coronariografía sin lesiones angiográficas significativas (<50%)
- Sujetos aceptados para tratamiento quirúrgico y reemplazo valvular aórtico.

5.5. CRITERIOS DE EXCLUSION

- Cardiopatía isquémica
- Insuficiencia cardíaca crónica FEVI < 50%
- Hipertensión arterial sistémica
- Insuficiencia renal crónica (creatinina >1.5 mg/dL)
- Hipertensión arterial pulmonar grave (presión sistólica de la pulmonar por ecocardiografía > 60 mmHg).
- Tratamiento con inhibidores de la ECA o antagonistas de los receptores de Ang II que no pueda suspenderse 2 semanas antes de la toma de muestras.
- Valvulopatías asociadas aórtica o no aórticas de grado importante.
- Dilatación del ventrículo izquierdo (DDVI >50 mm)

5.6. CRITERIOS DE ELIMINACION

- A solicitud del paciente.
- La falta de acceso a la información necesaria para corroborar que las condiciones clínicas prequirúrgicas en el grupo control de pacientes postoperados de cambio valvular aórtico fueran similares a los pacientes en el grupo de casos.

5.7. OPERACIONALIZACION DE VARIABLES

| Variable | Definición | Tipo | Operacionalización |
|--|--|--------------|---|
| Género | Característica que define fenotípicamente la expresión de los cromosomas sexuales | cualitativa | Masculino (1) Femenino (2) |
| Edad | Número de años cumplidos antes de l procedimiento quirùrgico | cuantitativa | años |
| Residencia | Domicilio del paciente en los últimos 6 meses. | cualitativa | Distrito Federal (1) Foráneo (2) |
| Estenosis Aórtica de Importante Repercusión hemodinámica | Area valvular aórtica medida por ecocardiografía transtorácica $< 1 \text{ cm}^2$ o gradiente medio transvalvular medido por doppler $> 30 \text{ mmHg}$ | cuantitativa | Centímetros cuadrados Gradiente transvalvular (mmHg) |
| Función contráctil conservada | Parámetros ventriculares izquierdos que evidencien adecuada función de bomba | cuantitativa | Fracción de expulsión (%) Fracción de acortamiento (%) |
| Fracción de expulsión | Porcentaje del volumen telediastólico que es expelido por el ventrículo izquierdo durante un latido. | cuantitativa | Mayor o menor de 50% |
| Diámetro telesistólico | Diámetro ventricular izquierdo al final de la sístole, medido por ecocardiografía transtorácica, dentro del rango esperado para la edad. | cuantitativo | mm |

| Variable | Definición | Tipo | Operacionalización |
|---------------------------------------|---|--------------|--------------------|
| Diámetro telediastólico | Diámetro ventricular izquierdo al final de la diástole, medida por ecocardiografía transtorácica, dentro del rango esperado para la edad. | Cuantitativo | mm |
| Gradiente Medio Transvalvular Aórtico | Diferencia de presiones entre cavidad aórtica y la cavidad ventricular izquierda, medida por ECO doppler | Cuantitativo | mmHg |
| Angiotensina II | Nonapéptido obtenido de la fragmentación de la Angiotensina I, excretado en la orina para su medición | cuantitativo | Picomoles/mL |
| Angiotensina – (1-7) | Heptapéptido obtenido de la conversión de angiotensina II por la ECA 2, excretado en la orina | cuantitativo | Picomoles/mL |

5.8. PROCEDIMIENTO

Después de detectar un caso o control, se obtuvo el consentimiento informado del mismo. El análisis ecocardiográfico fue realizado en el departamento de ecocardiografía del Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez" (INCICh) mediante equipo VID 3000. Las determinaciones del perfil bioquímico y hematológico fueron realizadas en el laboratorio del INCICh mediante equipos debidamente regulados.

La determinación de Ang-II y Ang-(1-7), fueron determinadas simultáneamente en muestras de primer orina de la mañana, mediante electroforesis capilar de zona. La orina se trató con ácido acético al 4% (v/v), se centrifugó a 3000 rpm durante 5 minutos y se filtró con filtros de membrana de nitrocelulosa de 0.22 μm (Millipore, Billerica, MA, USA). Posteriormente se diluyó 1:10 con hidróxido de sodio 0.1 M, se filtró con cartuchos de extracción en fase sólida (Sep-Pak Classic C-18, Waters Co., Milford, MA, USA) y se analizó directamente. Para tal efecto, se utilizó el sistema de electroforesis capilar P/ACE™ MDQ (Beckman Coulter, Inc., Fullerton, CA, USA). El análisis se realizó por detección UV por arreglo de diodos a una longitud de onda de 200 nm. Los resultados se expresaron en pmoles/mL en contraste con una curva estándar de angiotensina II y angiotensina-(1-7) en un rango de 0 a 10 pmoles/mL de cada uno de los analitos de interés.

El análisis estadístico se llevó a cabo mediante el uso de paquete estadístico Analyse-It para Microsoft Excel. Para cada variable a estudiar se

estableció que tipo de distribución presentaba en los datos, mediante la prueba de contraste de Shapiro Wilk, presentando las gráficas de distribución de datos en la sección de resultados. Para las variables categóricas se presentan proporciones, porcentajes y/o frecuencias, analizándose en casos meritorios mediante diferencia de proporciones.

Las variables continuas se analizaron mediante medidas de tendencia central y dispersión. Este tipo de variables se evaluaron mediante la prueba de t de Student para diferencia de medias en grupos no relacionados, en caso de que los grupos de datos cumplieran con criterios sugestiva de normalidad en su distribución. El análisis para las variables con criterios sugestiva de no tener una distribución normal se analizaron con la prueba no paramétrica de Mann-Whitney. La significancia estadística se estableció en 95%. El poder estadístico al comparar se determinó > 0.9 al comparar los grupos entre sí mediante las medidas de tendencia central.

En el análisis de grupos se compararon los pacientes con estenosis aórtica de importante repercusión hemodinámica aún no intervenidos quirúrgicamente versus pacientes en seguimiento post cambio valvular aórtico y versus un grupo de pacientes control sanos. Además se comparó al grupo de pacientes post cambio valvular aórtico vs controles sanos. Dentro del análisis de subgrupos se organizó arbitrariamente a los pacientes postoperados de cambio valvular aórtico en intervalos de tiempo desde su evento quirúrgico hasta el momento de la muestra y se compararon de la siguiente manera: menores o iguales a 2 años, entre 2 y 5 años y mayores a 5 años del recambio valvular aórtico, cada uno contra el grupo de pacientes controles sanos.

VI. RESULTADOS

Durante el período de recolección de datos se realizó escrutinio de 95 pacientes incluidos en el programa de cirugía para cambio valvular aórtico del Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”, encontrando en 31 de ellos (*Grupo A*) las características descritas como criterios de inclusión y sin cumplir ningún criterio de exclusión (sin hipertensión arterial, sin cardiopatía isquémica, sin insuficiencia renal, sin insuficiencia cardíaca y sin uso de medicamentos moduladores del sistema renina-angiotensina-aldosterona, SRAA). Del total de pacientes de este grupo se procesaron 31 muestras para niveles urinarios de angiotensina-(1-7) [Ang-(1-7)] y 30 muestras para niveles urinarios de angiotensina II (Ang II), debido a problemas técnicos en el procesamiento de éste último parámetro para una de las muestras obtenidas.

Dentro de los pacientes monitorizados periódicamente en la Clínica de Anticoagulación de la Consulta Externa del Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”, se realizó el escrutinio de 150 pacientes con seguimiento por cambio valvular aórtico con un intervalo mayor o igual a 18 meses desde el evento quirúrgico, encontrando 31 pacientes (*Grupo B*) con las características descritas como criterios de inclusión y sin cumplir ningún criterio de exclusión. Todas las muestras se procesaron para la medición de niveles urinarios de Ang-(1-7) y Ang II.

Las características demográficas, clínicas relevantes y hemodinámicas de la estenosis valvular aórtica de los pacientes incluidos en los grupos descritos en el párrafo anterior fueron similares al compararse, y se

encuentran plasmadas en las tablas 1 y 2. El promedio de edad fue de 56.4 años para el *Grupo A* y 54.2 años para el *grupo B*. El 80% de los pacientes en ambos grupos fueron de género masculino. Se documentó la presencia de diabetes mellitus tipo 2 en el 19.3% de pacientes del *Grupo A* y en el 16.3% de pacientes del *Grupo B* ($p:0.247$).

Las características clínicas respecto a niveles de tensión arterial y creatinina sérica fueron similares al compararse ambos grupos, inclusive con las características actuales y en el momento prequirúrgico del *Grupo B*. El grado de estenosis valvular aórtica y repercusión hemodinámica fue muy similar (Tabla 2) comparando el Grupo A con los pacientes del Grupo B en su momento prequirúrgico, tomando en cuenta el área valvular aórtica (0.62 cm^2 vs 0.65 cm^2 ; $p: 0.522$), el gradiente medio (61.3 mmHg vs 61 mmHg $p: 0.938$) y la velocidad de flujo aórtico (4.3 m/seg vs 4.5 m/seg ; $p: 0.673$). La función sistólica del ventrículo izquierdo en base a la fracción de expulsión (FEVI) y la fracción de acortamiento (Fact) fue normal en los grupos *A* y *B*, sin existir diferencia significativa al compararse los valores referidos del *Grupo A* contra el *Grupo B*, en sus momentos prequirúrgico (FEVI $p:0.052$; Fact $p: 0.701$) y postquirúrgico (FEVI $p:0.069$; Fact $p: 0.968$)

Dentro del grupo de pacientes postoperados de cambio valvular aórtico, se obtuvo un promedio de intervalo de seguimiento de 6.9 años (DE: 4.9 años) desde el evento quirúrgico hasta el momento de la toma de muestra. Con valores mínimo y máximo de 2 y 25 años para dicho intervalo de tiempo. El 16.2% de los pacientes de este grupo tuvo un intervalo menor o igual a 2 años desde su evento quirúrgico hasta la toma de muestra. El 48%

Tabla 1. Características Demográficas

| Característica | Pacientes con Estenosis Aórtica (n:31) | | Post CVAo n: 31 | p | Controles Sanos (n: 21) | p | |
|--------------------------|--|---------------|-----------------|----------------|-------------------------|-----------------|------|
| Edad | Promedio | 56.4 (14.4)* | 54.2 (11.7)* | 0.3 | 53.6 (13.2)* | 0.45 | |
| Género | Masculino | 25 (80%) | 25 (80%) | | 14 (70%) | | |
| | Femenino | 6 (20%) | 6 (20%) | | 7 (30%) | | |
| Lugar de Residencia | Distrito Federal | 6 (20%) | 11 (35%) | | 19 (90%) | | |
| | Provincia | 25 (80%) | 20 (65%) | | 2 (10%) | | |
| Antecedentes Patológicos | Diabetes Mellitus | 6 (19.3%) | 5 (16.3) | 0.247 | 4 (19.04%) | 0.83 | |
| | Hipertensión Arterial Sistémica | 0 | 0 | | 0 | | |
| | Infarto del Miocardio | 0 | 0 | | 0 | | |
| | Insuficiencia Renal Crónica | 0 | 0 | | 0 | | |
| Características Clínicas | Presión Arterial Sistólica (mmHg) | 121.2 (10.5)* | 116.3 & (12.7)* | 0.109 | 115.4 (14)* | 0.08 | |
| | | | 118.5 (8.3)* | 0.112 | | | |
| | Presión Arterial Diastólica (mmHg) | 75.1 (6.5)* | 72.0 & (7.07)* | 0.083 | 72.3 (6.1)* | 0.09 | |
| | | | 74.5 (5.3)* | 0.686 | | | |
| | Creatinina (mg/dL) | 0.96 (0.21)* | | 1.04 & (0.16)* | 0.087 | 0.88 (0.4-1.1)* | 0.20 |
| | | | | 0.92 (0.14)* | 0.458 | | |

* Representan la desviación estándar del parámetro analizado.

& Representan los valores de tensión arterial o niveles de creatinina sérica en la población de controles postoperados de cambio valvular aórtico en su momento prequirúrgico.

tenía al menos 5 años de seguimiento postquirúrgico y un 19.3% tenía más de 10 años de este intervalo.

Tabla No. 2. Características de la Enfermedad Valvular Aórtica

| Parámetro | Pacientes con Estenosis Aórtica (n:31) | Controles | | | | | p |
|--|--|----------------------|-------|-----------------------|-------|--------------|--------|
| | | PO CVAo PreQx (n:31) | p | PO CVAo Actual (n:31) | p | Sanos (n:21) | |
| Area Valvular Aórtica (cm ²) | 0.62 (0.182)* | 0.65 (0.191)* | 0.522 | ND | NA | ND | NA |
| Fracción de Expulsión del VI (%) | 64.6 (5.35)* | 61.5 (7.1)* | 0.052 | 62.1 (5.6)* | 0.069 | 64 | 0.45 |
| Fracción de acortamiento (%) | 37% (7.2)* | 38.8 (5.6)* | 0.701 | 38.13 (4)* | 0.968 | 39.1 (5.3) | 0.53 |
| Velocidad del flujo Aórtico (m/seg) | 4.3 (0.56)* | 4.5 (0.44)* | 0.673 | 1.2 (0.3) | <0.01 | 1.1 (0.2) | < 0.01 |
| Gradiente medio (mmHg) | 61.3 (12.7)* | 61 (18.4)* | 0.938 | NG | NA | NG | NA |

* Representa la desviación estándar de la medición descrita.

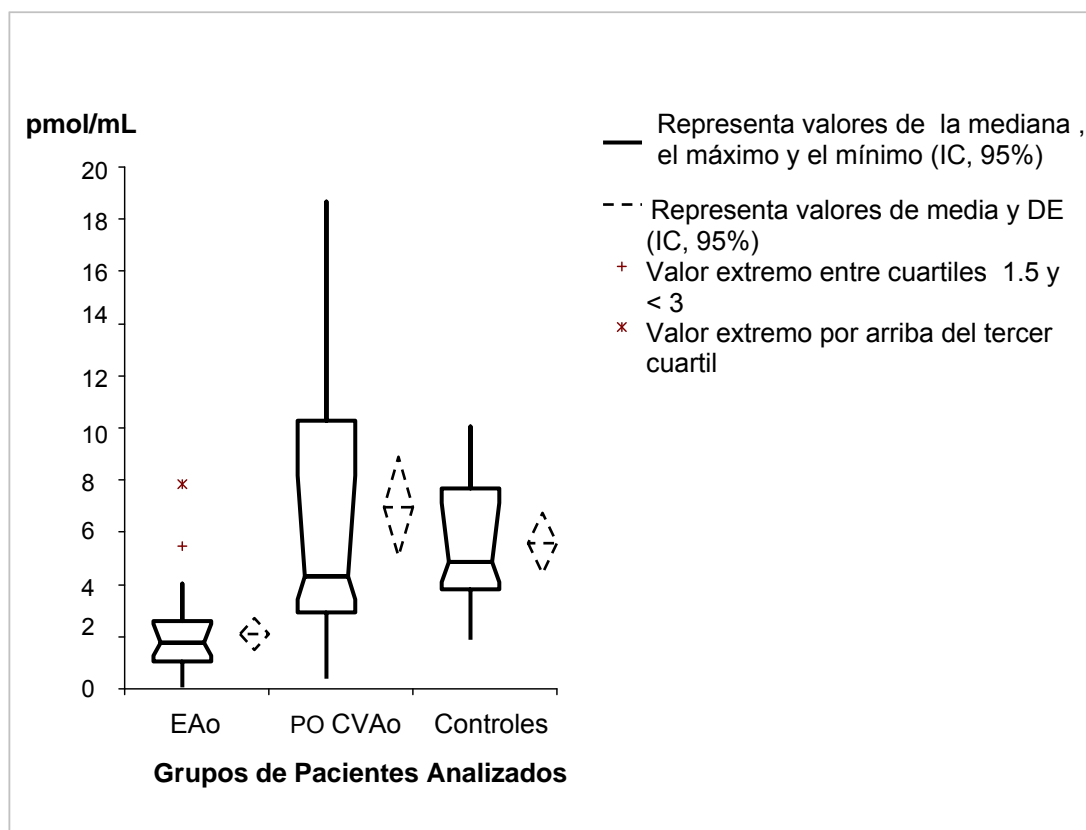
- Abreviaturas: ND (no datos), NA (no aplica), NG (no gradiente) VI (ventrículo izquierdo)

La muestra de pacientes controles sanos (*Grupo C*) consistió en 21 pacientes con un promedio de edad de 53.6 años ($p: 0.45$), obtenidos del personal que labora en el Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez” y familiares de pacientes del grupo de casos, todos sin características descritas como criterios de exclusión y en quienes se realizó ecocardiografía transtorácica documentando adecuada función sistólica del ventrículo izquierdo y ausencia de patología valvular de cualquier tipo. El 70% de los miembros de este grupo fueron del género masculino. Se documentaron cuatro casos con diabetes mellitus tipo 2 ($p: 0.833$). Las características demográficas y clínicas de este grupo son comparablemente similares a los

grupos de pacientes caso con estenosis aórtica y de los pacientes en estado postquirúrgico tardío de cambio valvular aórtico. (ver tablas 1 y 2)

Los parámetros medidos hasta este momento en los tres diferentes grupos fueron analizados mediante pruebas paramétricas debido a que adoptaron una distribución normal, mediante el análisis comparativo de los valores de media versus mediana respectivos y la prueba de Shapiro Wilk.

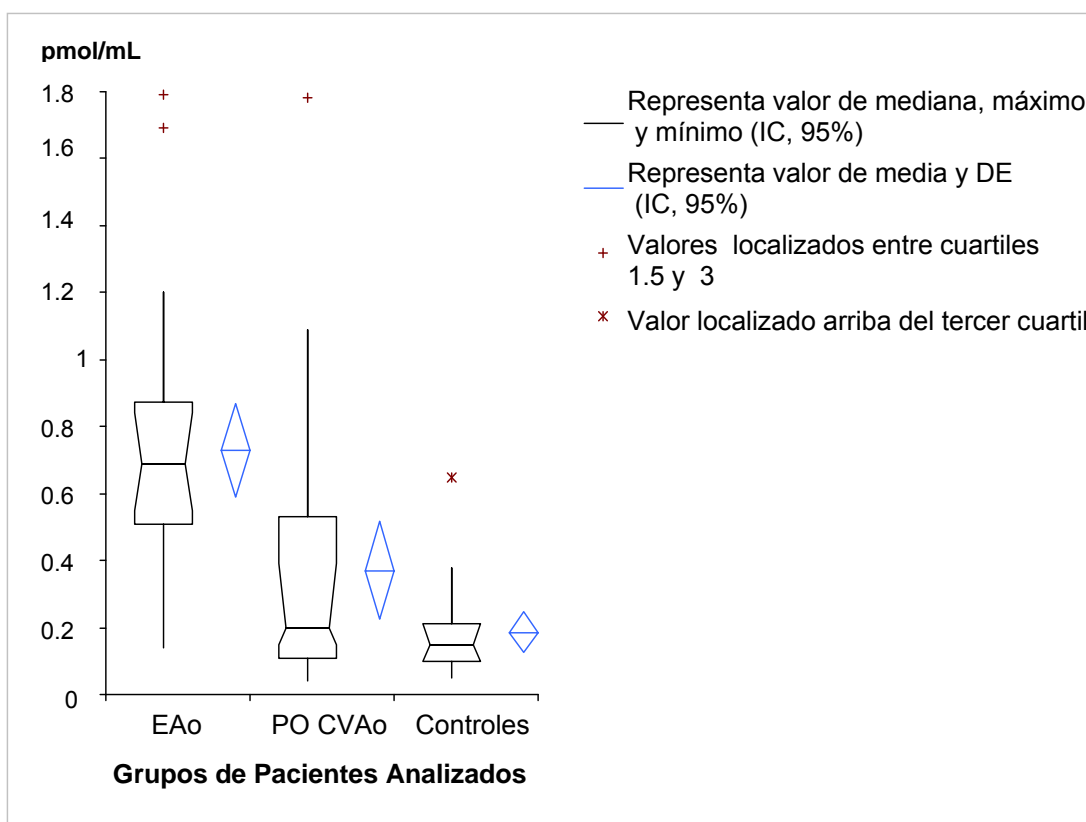
GRAFICO No. 1
Niveles Urinarios de Angiotensina-(1-7) Según
Grupo de Pacientes



Abreviaturas Utilizadas en Gráficos 1 y 2: IC: intervalo de confianza, DE: desviación estándar, EAo: grupo con estenosis aórtica en momento prequirúrgico. PO CVAo: grupo de postoperados de cambio valvular aórtico.

Ahora bien se analizó la distribución muestral en cada uno de los grupos, analizando las determinaciones obtenidas de concentración urinaria de Ang-(1-7) y Ang II mediante la comparación de sus medias vs medianas (ver gráficos 1 y 2), documentando que solamente el *Grupo C* contaba con una distribución normal (ver Gráficos 3 a 5) en el subgrupo de valores

GRAFICO No. 2 Niveles Urinarios de Angiotensina II Según Grupo de Pacientes



Abreviaturas Utilizadas en Gráficos 1 y 2: IC: intervalo de confianza, DE: desviación estándar, EAo: grupo con estenosis aórtica en momento prequirúrgico. PO CVAo: grupo de postoperados de cambio valvular aórtico.

obtenidos de concentración urinaria de Ang-(1-7) según el Test de Shapiro Wilk. Lo anterior definió el análisis comparativo entre grupos mediante la aplicación de la prueba no paramétrica de Mann-Whitney

Dirigimos ahora nuestra descripción al objetivo de la presente investigación (ver resumen de análisis estadístico- Tabla 3 y Gráficos 4 y 5). Para el *Grupo A* el promedio de concentración de Ang-(1-7) fue de 2.09 pmol/mL (DE 1.61 pmol/mL) y una mediana de 1.78 pmol/mL, del total de 31 pacientes solamente el 6% presentaba una concentración normal. La concentración promedio de niveles urinarios de Ang II en el *Grupo A* fue de 0.727 pmol/mL (DE 0.365 pmol/mL), con solamente el 3% (1 caso) con una concentración dentro del rango normal de Ang II (0.01-0.25 pmol/mL).

Para el *Grupo B* el promedio de concentración urinaria de Ang-(1-7) fue de 6.98 pmol/mL (DE 5.2 pmol/mL) con un 71% de los controles en un rango estrictamente normal (4-8 pmol/mL) solamente un 12% de los pacientes presentaba niveles importantemente disminuidos (< 3 pmol/L) y sólo el 6% estaba por debajo del promedio descrito para el *Grupo A*. Las concentraciones urinarias de Ang II en el *Grupo B* tuvieron un promedio de 0.371 pmol/mL. Aunque el promedio de valores se encontró por arriba del rango normal (0.01 a 0.25 pmol/mL), el 57% de los pacientes presentó concentraciones urinarias de Ang II dentro de rango normal.

Dentro del grupo de controles sanos (*Grupo C*) el promedio para las concentraciones urinarias de Ang II y Ang-(1-7) estuvieron dentro del rango normal, 0.186 pmol/mL (DE 0.15 pmol/mL) y 5.591 pmol/mL (DE 2.576 pmol/mL) respectivamente. El 14% de los pacientes controles sanos presentó

Gráfico 3 - Análisis de Normalidad – Prueba de Shapiro Wilk para Niveles Urinarios de Angiotensina-(1-7) y Angiotensina II

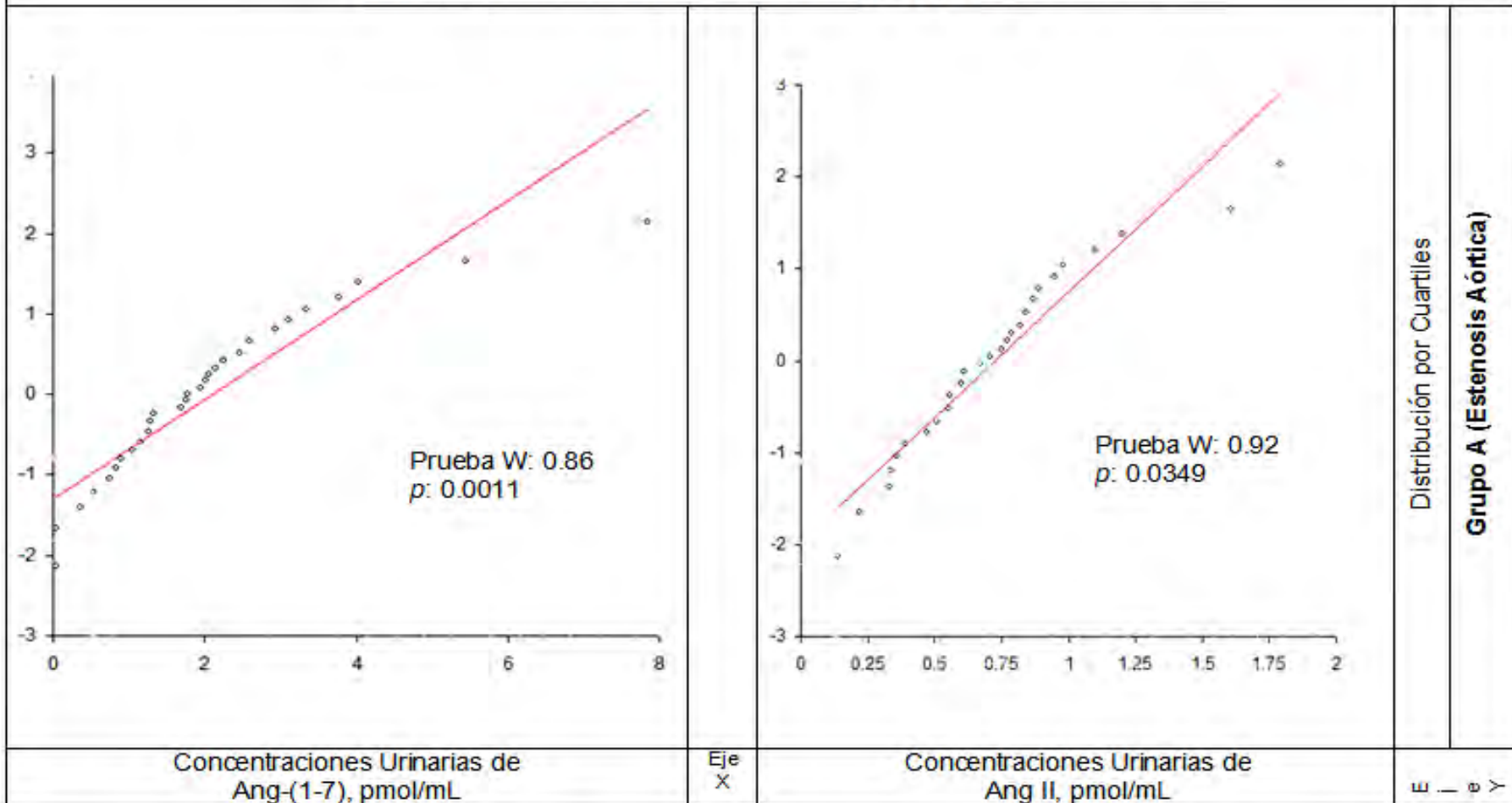


Gráfico 4 - Análisis de Normalidad – Prueba de Shapiro Wilk para Niveles Urinarios de Angiotensina-(1-7) y Angiotensina II

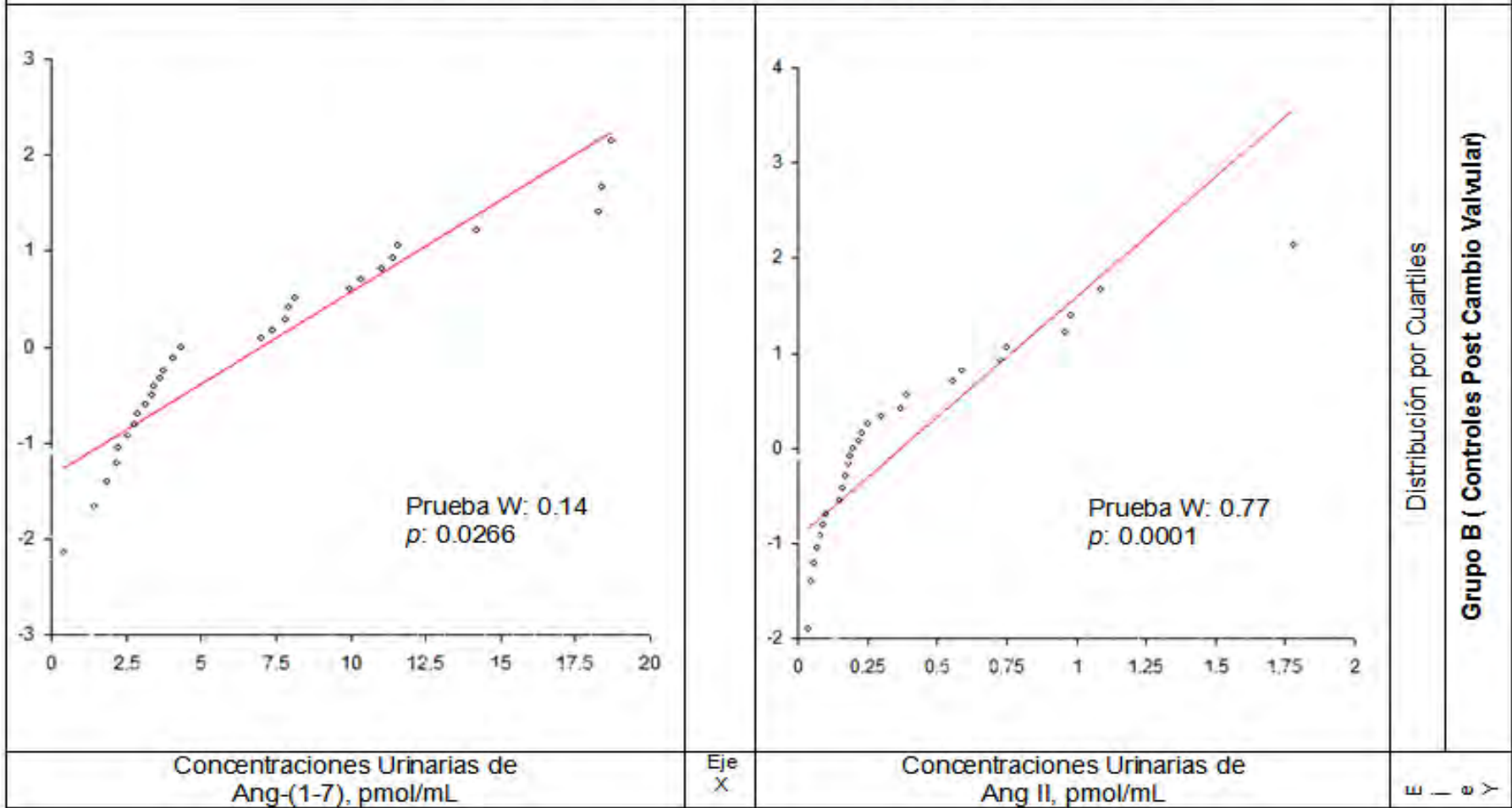
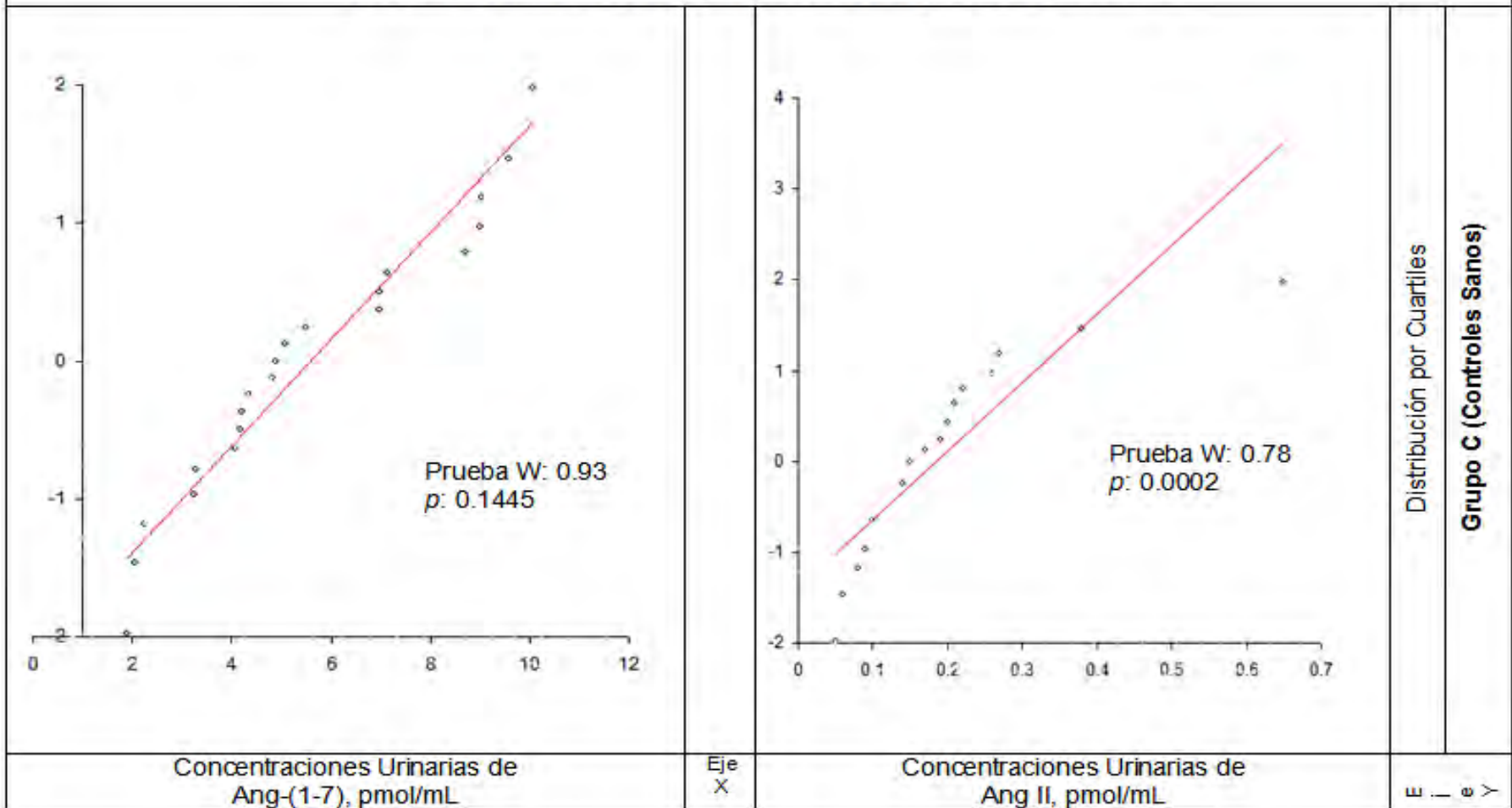


Gráfico 5 - Análisis de Normalidad – Prueba de Shapiro Wilk para Niveles Urinarios de Angiotensina-(1-7) y Angiotensina II



un valor de Ang-(1-7) menor al esperado como valor mínimo normal. El 6.5% de estos mismos presentaron una concentración de Ang II por arriba del rango normal. En ningún paciente control coincidió la presencia de valores anormales de Ang-(1-7) y Ang II.

Encontramos que existe una diferencia significativa en las concentraciones urinarias de Ang-(1-7) al comparar los grupos A y B (n: 31 para ambos, M1-M2: -3.1, U: 825, p : <0.0001, IC: -6.185 a -1.808), así como al comparar los grupos A y C (nA: 31 nC: 21, M1-M2: -3.229, U:585, p : <0.0001, IC: -4.671 a -2.121). No existió una diferencia significativa entre las concentraciones urinarias de Ang-(1-7) de las muestras B y C (nB: 31 nC: 21, M1-M2: 0.267, U:313, p : 0.8229, IC: -1.44 a 2.931).

En el análisis ejecutado para las muestras de concentraciones urinarias de Ang II, encontramos que también existe una diferencia significativa entre los grupos A y B (nA: 30 nB: 31, M1-M2: 0.4, U: 191, p : <0.0001, IC: 0.23 a 0.55), así como al comparar los grupos A y C (nA: 30 nC: 21, M1-M2: 0.505, U:32, p : <0.0001, IC: 0.38 a 0.65). No existió una diferencia significativa entre las concentraciones urinarias de Ang-(1-7) de las muestras B y C (nB: 31 nC: 21, M1-M2: 0.06, U:247, p : 0.1455, IC: -0.02 a 0.17).

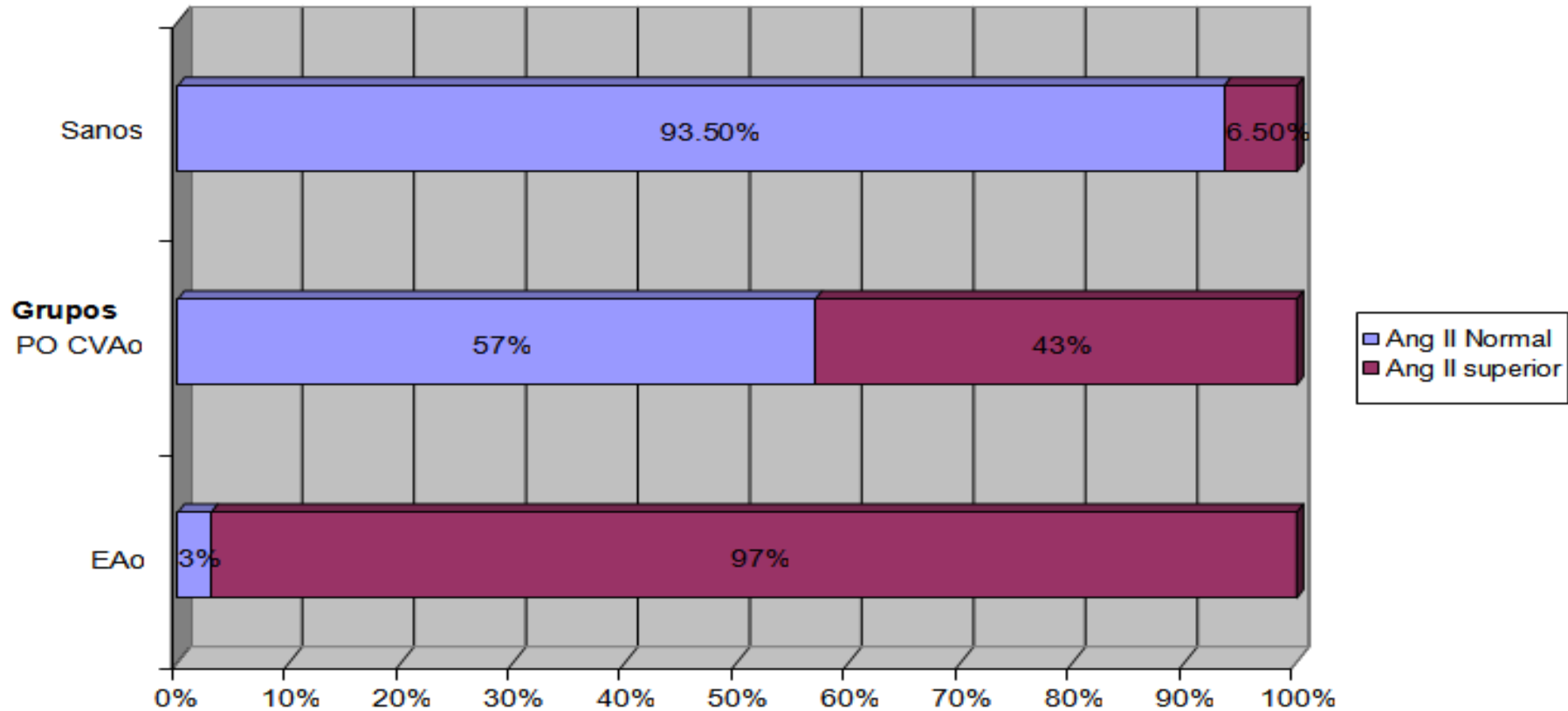
Como subgrupos (SG) se analizaron a los pacientes contenidos dentro del grupo B, formando conjuntos definidos por intervalo de tiempo entre 18 meses y 2 años (SG B1), entre 2 a 5 años (SG B2) y más de 5 años (SG B3) desde el cambio valvular aórtico hasta el momento de la toma de muestra. Estos tres subgrupos se compararon contra el Grupo C para determinar de manera indirecta si las concentraciones urinarias de Ang-(1-7) y Ang II,

tendían a ser semejantes entre los grupos confrontados, dependiendo del intervalo de tiempo.

Se estableció que la diferencia en las concentraciones urinarias de Ang-(1-7) del *SG B1* no eran significativamente distintas a las del *Grupo C* ($n_{B1}: 5$, $n_C: 21$, $M1-M2: -3.1$, $U: 825$, $p: <0.0001$, $IC: -6.185$ a -1.808). Esta relación estadística se conservó en la comparación entre subgrupos *SGB2* contra *Grupo C* y *SGB3* contra *C*.

Gráfico 6

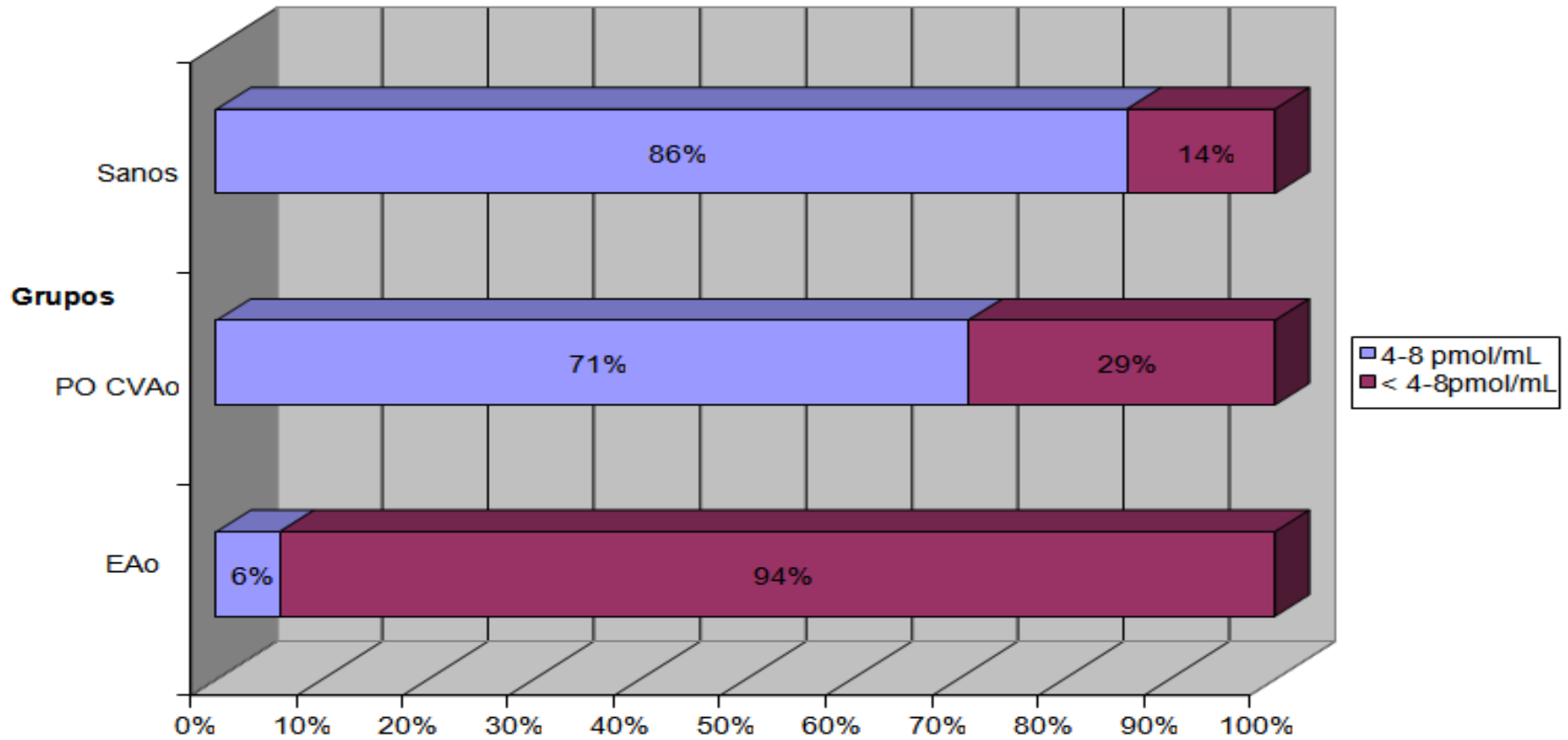
Proporción de Pacientes con Niveles Urinarios Normales de Angiotensina II



Abreviaturas: PO CVAo: postoperados de cambio valvular aórtico, EAo: pacientes con estenosis aórtica de importante repercusión hemodinámica

Gráfico 7

Proporción de Pacientes con Valores Normales en Concentración de Angiotensina-(1-7)



Abreviaturas: PO CVAo: postoperados de cambio valvular aórtico, EAo: pacientes con estenosis aórtica de importante repercusión hemodinámica

Tabla 3. Resumen de Análisis Estadístico

| | Niveles Urinarios Angiotensina-(1-7) | Niveles Urinarios Angiotensina II |
|---------------------------------|---|--|
| Valores rango normal | 4-8 pmol/mL | 0.01-0.25 pmol/mL |
| Estenosis Aórtica (Grupo A) | n: 31 | n: 30 |
| • Media | 2.087 pmol/mL | 0.727 pmol/mL |
| • Mediana (M) | 1.775 pmol/mL | 0.69 pmol/mL |
| • Desviación Estándar | 1.617 pmol/mL | 0.365 pmol/mL |
| • Curtosis | 4.478 | 1.949 |
| Controles Post CVAo(Grupo B) | n: 31 | n: 31 |
| • Media | 6.980 pmol/mL | 0.371 pmol/mL |
| • Mediana | 4.330 pmol/mL | 0.2 pmol/mL |
| • Desviación Estándar | 5.206 pmol/mL | 0.396 pmol/mL |
| • Curtosis | 0.144 | 4.279 |
| • Seguimiento < 2 años | n: 5 | n: 5 |
| • Seguimiento 2-5 años | n: 11 | n: 11 |
| • Seguimiento > 5 años | n: 15 | n: 15 |
| Grupo Control Sano (Grupo C) | n: 21 | n: 21 |
| • Media | 5.591 pmol/mL | 0.186 pmol/mL |
| • Mediana | 4.879 pmol/mL | 0.15 pmol/mL |
| • Desviación Estándar | 2.576 pmol/mL | 0.133 pmol/mL |
| • Curtosis | - 1.084 | 7.133 |
| <i>Análisis Estadístico</i> | <i>Prueba No paramétrica de Mann-Whitney (U) para muestras independientes</i> | |
| <i>Significancia</i> | 95% | 95% |
| Hipótesis nula No. 1 | Niveles urinarios de Ang-(1-7) EAo = Controles PO CVAo | Niveles urinarios de Ang II EAo = Controles PO CVAo |
| • M1-M2 | -3.1800 | 0.4 |
| • IC | -6-185 a -1.808 | 0.230 a 0.55 |
| • Estadístico U | 825 | 191 |
| • Valor de <i>p</i> | < 0.0001 | <0.0001 |

EAo: pacientes con estenosis aórtica; PO CVAo: pacientes post cambio valvular aórtico
M1-M2: diferencia de medianas; IC: intervalo de confianza; U: prueba de Mann-Whitney

Continuación de Tabla 3. Resumen de Análisis Estadístico

| | | |
|----------------------|---|--|
| Hipótesis nula No. 2 | Niveles urinarios de Ang-(1-7) EAo = Controles Sanos | Niveles urinarios de Ang II EAo = Controles Sanos |
| • M1-M2 | -3.229 | 0.505 |
| • IC | -4.67 a -2.121 | 0.380 a 0.650 |
| • Estadístico U | 585 | 32 |
| • Valor de p | < 0.0001 | < 0.0001 |
| Hipótesis nula No. 3 | Niveles urinarios de Ang-(1-7) PO CVAo = Sanos | Niveles urinarios de Ang II PO CVAo = Controles Sanos |
| • M1-M2 | 0.267 | 0.06 |
| • IC | -1.44 a 2.931 | -0.02 a 0.17 |
| • Estadístico U | 313.5 | 247.5 |
| • Valor de p | 0.8229 | 0.1455 |

Tabla 4. Resumen de Análisis Estadístico de Subgrupos

| <i>Análisis Estadístico de Subgrupos</i> | <i>Prueba No paramétrica de Mann-Whitney (U) para muestras independientes</i> | |
|--|---|--|
| | <i>95%</i> | <i>95%</i> |
| Hipótesis nula | Niveles urinarios de Ang-(1-7) PO CVAo < 2 años = Controles Sanos | Niveles urinarios de Ang II PO CVAo < 2 años = Controles Sanos |
| • IC | -1.699 a 3.79 | 0.03 a 0.32 |
| • Estadístico U | 160 | 85 |
| • Valor de p | 0.8063 | 0.0108 |
| Hipótesis nula | Niveles urinarios de Ang-(1-7) PO CVAo 2-5 años = Controles Sanos | Niveles urinarios de Ang II PO CVAo 2-5 años = Controles Sanos |
| • IC | -1.479 a 4.545 | 0.01 a 0.25 |
| • Estadístico U | 100 | 61 |
| • Valor de p | 0.5386 | 0.0304 |
| Hipótesis nula | Niveles urinarios de Ang-(1-7) PO CVAo > 5 años = Controles Sanos | Niveles urinarios de Ang II PO CVAo > 5 años = Controles Sanos |
| • IC | -1.91 a 3.25 | -0.06 a 0.16 |
| • Estadístico U | 153.5 | 152 |
| • Valor de p | 0.8979 | 0.8598 |

EAo: pacientes con estenosis aórtica; PO CVAo: pacientes post cambio valvular aórtico
M1-M2: diferencia de medianas; IC: intervalo de confianza; U: prueba de Mann-Whitney

VII. ANALISIS DE RESULTADOS

Hasta el momento, cada día que pasa, el sistema renina-angiotensina-aldosterona parece convertirse en un eje más complejo que el que inicialmente se pensaba,(2) interviniendo en muchas funciones celulares tanto a distancia como a nivel local(9) en diferentes tejidos, dentro de una gama de aspectos fisiológicos normales y dentro de la fisiopatología de enfermedades especialmente del entorno cardiovascular (7, 8, 12, 20). En auge se encuentra el estudio de las moléculas contrarreguladoras, como la Angiotensina-(1-7) [Ang-(1-7)], que se consideran en la actualidad de beneficio clínico respecto a patologías de gran impacto como la hipertensión arterial sistémica, insuficiencia cardiaca y cardiopatía isquémica, todas éstas en donde se ha encontrado un papel básicamente protector o antagonista de los efectos nocivos de la Angiotensina II (Ang II).

El campo de estudio de la Ang-(1-7) es muy amplio y se encuentra en pañales en muchos aspectos. El involucro del SRAA en la fisiopatología de la estenosis de la válvula aórtica ya ha sido documentado al analizar tanto la progresión del daño miocárdico (18) como el valvular en sí (10), así como su participación sistémica (3) y local (21). Como primicia en el presente trabajo de tesis hemos intentado determinar de manera indirecta el comportamiento del sistema renina-angiotensina local miocárdico, en sus dos principales exponentes antagónicos, la Ang II versus la Ang-(1-7), en un grupo de pacientes que no había sido estudiado hasta el momento. Estos pacientes son aquellos con estenosis aórtica de importante repercusión hemodinámica

en quienes se supone que no existió una participación del SRAA sistémico debido a que nuestra muestra fue muy selectiva al escoger pacientes que cumplieran con no presentar patologías plenamente relacionadas con la activación de dicho sistema: hipertensión arterial sistémica, insuficiencia renal crónica, cardiopatía isquémica o insuficiencia cardíaca. Además, las características demográficas y clínicas de los pacientes casos con estenosis aórtica y controles postoperados de cambio valvular aórtico fueron muy homogéneos al compararse contra nuestra muestra de controles sanos. (ver en sección de resultados las Tablas 1 y 2)

La activación de los mecanismos compensatorios locales del miocardio debido a la sobrecarga hemodinámica impuesta por la estenosis aórtica, fueron tan drásticos como para modificar las concentraciones urinarias de Ang-(1-7) y Ang II de una manera importante.

Observando las proporciones presentadas en los gráficos 4 y 5, es notoria la diferencia en el porcentaje de pacientes con valores normales en las concentraciones urinarias de Ang-(1-7) y Ang II del grupo de pacientes que se analizaron en su momento posquirúrgico (*grupo B*) respecto al grupo de pacientes con estenosis aórtica no corregida (*Grupo A*), sugiriendo que sus proporciones tienden a parecerse más al grupo de pacientes controles sanos (*Grupo C*).

La diferencia obtenida al comparar las medidas de tendencia central de las concentraciones urinarias de Ang-(1-7) y Ang II en los grupos A contra C y al comparar A contra B fue estadísticamente significativa ($p < 0.001$ para cada confrontación de hipótesis). El comportamiento de las concentraciones urinarias de Ang II en el grupo A fue: ser mayor en comparación con la

tendencia de B y también mayor que la tendencia en C , pero las concentraciones de Ang-(1-7) tendieron a ser menores comparando los mismos grupos entre sí.

Pero, ¿por qué presentar este patrón en el comportamiento de las concentraciones urinarias de Ang II y Ang-(1-7) en los pacientes con estenosis aórtica de importante repercusión hemodinámica? si la secuencia esperada de eventos sería:

- a. Debido a la sobrecarga hemodinámica crónica impuesta al miocardio del ventrículo izquierdo, la inducción de una regulación al alza de la ECA local y por ende una mayor concentración tisular de Ang II (8, 10, 12).
- b. La sobreproducción de Ang II estimula la expresión de vías alternas para su degradación, como lo es una mayor síntesis local de Ang-(1-7) a través del aumento en la producción de la ECA 2 (13, 22, 34) en busca de un efecto contrarregulador, semejante a lo que se ha reportado en pacientes con infarto sin disfunción sistólica o aquellos con insuficiencia cardiaca crónica (18, 35, 53)
- c. Entonces a mayor concentración tisular, esperamos mayor concentración sérica y por ende mayor concentración en orina.

Al no tener un antecedente del análisis en el comportamiento de las concentraciones séricas ni urinarias de Ang-(1-7) en pacientes con estenosis aórtica, consideramos tomar como premisa el patrón referido por Ferrario y colaboradores, quienes documentaron para la década de los 90 que los niveles urinarios/séricos de Ang-(1-7) en personas normales conservaba una relación de 2.5/1. Así mismo esta relación disminuye importante y

significativamente en pacientes con hipertensión arterial sistémica sin disfunción sistólica del ventrículo izquierdo. (39) esto podría explicarse por alguna o una combinación de las siguientes opciones: una menor expresión capilar renal de ACE2 o una disminución en la filtración glomerular de la Ang-(1-7). (35)

Al analizar el comportamiento de las concentraciones de Ang II y Ang-(1-7) a través de las medidas de tendencia central entre los *grupos B* contra *C*, no se encontró una diferencia significativa ($p: 0.1455$ y $p: 0.8229$ respectivamente). Este hallazgo sugiere que a liberar la sobrecarga hemodinámica secundaria a la obstrucción mecánica del flujo de salida del ventrículo izquierdo permite al menos en cierto grado una regresión en los mecanismos de producción de Ang II y Ang-(1-7) locales, pudiendo llegar inclusive a un estado de balance normal del SRAA en una buena parte de los pacientes con estenosis aórtica de importante repercusión hemodinámica sometidos a cambio valvular que conservan su función sistólica dentro de límites normales.

Los datos obtenidos en el presente estudio parecen indicarnos que la normalización en la expresión de la ECA y la ECA2 no sigue un comportamiento igual en los postoperados de reemplazo valvular aórtico, pues el 57% del total de pacientes presentaron una concentración urinaria normal de Ang II y el 71% tenía un nivel normal de Ang-(1-7) medida en orina. Mediante el análisis de subgrupos de los pacientes sometidos previamente a reemplazo de la válvula aórtica, agrupándolos en intervalos de tiempo, nos muestra como la diferencia en las concentraciones de Ang-(1-7) en comparación con los pacientes sanos no es significativa desde al menos 2

años posterior al cambio valvular. A diferencia de este hallazgo, las concentraciones urinarias de Ang II tienden a ser significativamente similares al grupo control sano después de al menos 5 años de seguimiento.

Dentro de las limitaciones del presente estudio podemos mencionar que idealmente, para complementar la descripción del estado del SRAA en pacientes con estenosis aórtica de importante repercusión hemodinámica, debería haberse determinado las concentraciones séricas de Ang II y Ang-(1-7), e inclusive siendo más agresivos mediante la determinación tisular de la expresión tisular de ECA y ECA2, a través de biopsia endomiocárdica transoperatoria. Además para evidenciar el beneficio de la intervención quirúrgica oportuna para normalizar el estado del SRAA en este tipo de pacientes el mejor diseño podría optimizarse a ser comparativo en una cohorte en diferentes momentos del seguimiento postquirúrgico, también con mediciones urinarias y séricas de concentraciones de Ang II y Ang-(1-7). Estas limitaciones encuentran cierto grado de justificación en las siguientes explicaciones, las determinaciones séricas de Ang II y Ang-(1-7) subían los costos de manera importante para poder llevar a cabo el estudio y teníamos ya documentado con evidencia una relación establecida entre los niveles de Ang II y Ang-(1-7) en pacientes normales (35). El seguimiento periódico en un estudio de tipo cohorte también elevaba los costos para el grupo de investigación y para los pacientes, pues debemos tomar en cuenta de que el 80% de los pacientes intervenidos quirúrgicamente durante el período del estudio eran foráneos y su seguimiento en clínica de anticoagulación era llevado en sus lugares de origen, presentándose al Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez" con intervalos prolongados en consulta externa.

Además nuestro estudio se considera como pivote para estudios de mayor complejidad y mejor diseño metodológico.

El análisis de los datos del presente estudio es el punto de partida para despertar el interés y más dudas científicas que pueden ahondarse en investigaciones posteriores, como por ejemplo:

Sería interesante determinar en qué momento los pacientes con estenosis aórtica de repercusión hemodinámica ligera o moderada alteran la expresión de la enzima convertidora de angiotensina 2 (ECA2) y por ende modifican las concentraciones de Ang-(1-7). Así mismo puede ser de interés describir el comportamiento periódico de la SRAA en el seguimiento de los pacientes sometidos a cambio valvular aórtico.

Si sabemos que los IECA pueden también aumentar las concentraciones de Ang-(1-7) (54) y además existe evidencia de que la Ang-(1-7) inhibe el crecimiento de los cardiomiocitos (31) además de que la Ang II se implica en el proceso inflamatorio local de la progresión del grado de estenosis (10), no suena descabellado pensar en que podría ser una opción terapéutica para evitar la progresión de la enfermedad valvular aórtica en pacientes en fases tempranas o con repercusión hemodinámica moderada de la estenosis; ya que no se demostró reducción de la progresión del grado de estenosis con el uso de estatinas (simvastatina) en combinación con ezetimiba en el estudio SEAS (55) podríamos suponer que el uso combinado podría tener algún efecto añadido al proceso inflamatorio valvular (52) y producir un efecto benéfico significativo, pues apenas el 14% de los pacientes en este estudio se encontraban utilizando IECAS.

VIII. CONCLUSIONES

1. La activación de los mecanismos compensatorios locales del miocardio debido a la sobrecarga hemodinámica impuesta por la estenosis aórtica de importante repercusión hemodinámica, fueron tan drásticos como para modificar las concentraciones urinarias de angiotensina-(1-7) y angiotensina II, en comparación con el grupo de casos de control sanos.
2. El grupo de pacientes control, postoperados de cambio valvular aórtico presentó una distribución de datos que se comportó diferente a los pacientes con estenosis aórtica y de manera muy similar a los pacientes control sano, infiriendo una tendencia a la normalización en las funciones del sistema renina angiotensina-aldosterona tisular en el miocardio.
3. La similitud entre los niveles urinarios de angiotensina-(1-7) de los pacientes postcambio valvular aórtico y los casos control parece existir con intervalo de tiempo al menos mayor o igual a 18-24 meses desde el evento quirúrgico.

4. Los niveles urinarios de angiotensina II parecen alcanzar un rango normal en menor proporción que los niveles de angiotensina-(1-7) y para ello parece ocupar un intervalo de tiempo al menos igual a 5 años desde el evento quirúrgico.

IX. RECOMENDACIONES

1. Al documentar la actividad de la angiotensina-(1-7) como contrarregulador de la angiotensina II, implicado en la fisiopatología de la estenosis aórtica se debe proponer el seguimiento de los pacientes con estenosis aórtica de repercusión hemodinámica ligera a moderada, para determinar en que momento empieza el desequilibrio entre las moléculas descritas. Esto podría tomarse como estrategia para iniciar medidas reguladoras como tratamiento farmacológico para tratar de modificar la evolución y la progresión de la enfermedad valvular aórtica y sus implicaciones en la función miocárdica. Quizá con el objetivo de retrasar el momento quirúrgico en una población como la nuestra, en quienes muchas veces el aspecto económico puede influir, previendo un mayor tiempo de preparación.
2. Existen aún grupos de pacientes que son terreno virgen para el estudio de la implicación de la angiotensina (1-7) como por ejemplo, los pacientes con hipertensión arterial pulmonar y los pacientes con cardiopatías congénitas.

X. BIBLIOGRAFIA

1. Bonow, R., et al. 2008 Focused Update Incorporated into the ACC/AHA 2006 Guidelines for the Management of Patients With Valvular Heart Disease. *JACC*. Vol 52 No.13 sept. 2008 e18-e25.
2. Alva C., Gómez F., Yáñez L. E stenosis Valvular Aórtica Congénita. Actualización del Tratamiento. *Arch Cardiol Méx* Vol 76 Supl 4/Octubre-Diciembre 2006:152-157
3. Douglas P. Zipes, Md et al Braunwald's Heart Disease a Textbook of Cardiovascular 8th Edition Capítulo 21.
4. Lawrence S Zisman.. ACE and ACE2: a tale of two enzymes. *Euro Heart Jour*, 2005: 26; 3222-324
5. Chai S y cols. The angiotensin IV/AT4 receptor. *Cell Mol Life Sci* 2004: 61;2728-2737
6. Steckelings U. and Daschina E and Unger T. The AT2 receptor: a matter of love and hate. *Peptides* 2005: 26; 1401-1409
7. Timothy L. Reudelhuber A Place in Our Hearts for the Lowly Angiotensin 1-7 Peptide? *Hypertension* 2006;47;811-815
8. Guadalajara J. Entendiendo la Hipertrofia Ventricular Izquierda. *Arch Cardiol Méx* Vol 77 Núm 3. julio- sept 2007:175-180)
9. Martin P., Poyan A and Kreutz R. Physiology of Local Angiotensin Systems. *Physiol Rev* 2006 :86; 747-803.
10. Fielitz J, Hein S, Mitrovic V, et al. Activation of the cardiac renin-angiotensin system and increased myocardial collagen expression in human aortic valve disease. *J Am Coll Cardiol*. 2001; 37: 1443–1449.

11. Weber, K. Extracellular matrix remodeling in Heart failure: a role for de novo angiotensin II generation. *Circulation*. 1997;96:4065-4082)
12. Yamazaki T, Komuro I, Yazaki Y: Role of the renin-angiotensin system in cardiac hypertrophy. *Am J Cardiol* 1999; 83: 53H57H
13. Escudero E. Pinilla O. Paradigmas y paradojas de la hipertrofia ventricular izquierda: desde el laboratorio de investigación a la consulta clínica *Arch Cardiol Méx.* Vol 77No. 3 2007:237-248
14. Celina M., Hita A., Gelpi R. Fisiología Integrada de la Hipertrofia Cardíaca. *Rev. Arg. Cardio* 1999: 67; 377-388
15. Lijnen P J, Petrov VV, Fagard R H. Induction of fibrosis by transforming growth factor- β 1. *Mol Gen Metab.* 2000; 71: 418–435.
16. Martínez M. Remodelación cardíaca e inflamación. *Arch Cardiol Mex* Vol 76 Supl 4 2006: S4, 58-66
17. Victoria. Matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in pressure-overloaded human myocardium during heart failure progression *J Am Coll Cardiol*, 2004; 44:1609-1618,
18. Stefan Hein, et al Progression From Compensated Hypertrophy to Failure in the Pressure-Overloaded Human Heart Structural Deterioration and Compensatory Mechanisms *Circulation*. 2003;107:984
19. Campbell, The Bitter End The Ubiquitin-Proteasome System and Cardiac Dysfunction *Circulation*. 2007;115:1456-1463
20. Helske S, Kupari M, Lindstedt KA, Kovanen PT Aortic valve stenosis: an active atheroinflammatory process.. *Curr Opin Lipidol.* 2007 Oct;18(5):483-91.

21. Helske S, Lindstedt KA, Laine M, Mäyränpää M, Werkkala K, Lommi J, Turto H, Kupari M, Kovanen PT. Induction of local angiotensin II-producing systems in stenotic aortic valves. *J Am Coll Cardiol*. 2004 Nov 2;44(9):1859-66
22. Carlos M. Ferrario; Mark C. Chappell; E. Ann Tallant; K. Bridget Brosnihan; Debra L. Diz Counterregulatory Actions of Angiotensin-(1-7) *Hypertension*. 1997;30:535.
23. Shrivastava MT, Santos RAS, Brosnihan KB, Khosla MC, Ferrario CM. Release of vasopressin from rat hypothalamo-neurohypophysial system by angiotensin-(1-7) heptapeptide. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1988;85:4095-4098.
24. Ferrario CM, Brosnihan KB, Diz DI, Jaishwal N, Khosla MC, Milsted A, Tallant EA. Angiotensin-(1-7): a new hormone of the angiotensin system. *Hypertension*. 1991;18(suppl III):III-126 –III-133
25. Donoghue M, Hsieh F, Baronas E, Godbout K, Gosselin M, Stagliano N, Donovan M, Woolf B, Robison K, Jeyaseelan R, Breitbart RE, Acton S. A novel angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase (ACE2) converts angiotensin I to angiotensin 1–9. *Circ Res* 2000;87:E1–E9.
26. Ursula Danilczyk, Josef M. Penninger Angiotensin-Converting Enzyme II in the Heart and the Kidney *Circ Res*. 2006;98:463-471.
27. Santos RA, Simoes e Silva AC, Maric C, Silva DM, Machado RP, de Buhr I, Heringer-Walther S, Pinheiro SV, Lopes MT, Bader M, Mendes EP, Lemos VS, Campagnole-Santos MJ, Schultheiss HP, Speth R, Walther T. Angiotensin-(1–7) is an endogenous ligand for the G-protein-coupled receptor Mas. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:8258–8263.

28. Walkyria Oliveira Sampaio, Robson Augusto Souza dos Santos, Raphael Faria-Silva, Leonor Tapias da Mata Machado, Ernesto L. Schiffrin and Rhian M. Touyz Angiotensin-(1-7) Through Receptor Mas Mediates Endothelial Nitric Oxide Synthase Activation via Akt-Dependent Pathways *Hypertension* 2007;49:185-192
29. Mariela M. Gi ronacci, Mari'a S. Valera, Irene Yujnovsky, Clara Peña Angiotensin-(1-7) Inhibitory Mechanism of Norepinephrine Release in Hypertensive Rats *Hypertension* 2004;44:783-787
30. E. Ann Tallant, Carlos M. Ferrario, and Patricia E. Gallagher Angiotensin-(1-7) inhibits growth of cardiac myocytes through activation of the mas receptor *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 289: H1560–H1566, 2005.
31. Machado RD, Santos RA, Andrade SP. Mechanisms of angiotensin-(1-7)-induced inhibition of angiogenesis. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2001;280:R994–R1000.
32. Kucharewicz I, Pawlak R, Matys T, Pawlak D, Buczko W. Antithrombotic effect of captopril and losartan is mediated by angiotensin-(1-7). *Hypertension*. 2002;40:774 –779.
33. Jorge F. Giani, Mariela M. Gi ronacci, Marina C. Muñoz, Clara Peña, Daniel Turyn, and Fernando P. Dominici Angiotensin-(1-7) stimulates the phosphorylation of JAK2, IRS-1 and Akt in rat heart in vivo: role of the AT₁ and Mas receptors *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 293: H1154-H1163, 2007.
34. Zisman L; Meixell G; Bristow M; Conner Ch.. Ang-(1-7) formation in the Intact Human Heart. *Circulation*. 2003;108:1679-1681

35. LM, R isvanis J, Kubota E et al . Myocardial infarction increases ACE2 expression in rat and humans. *Eur Heart Jour* 2005;26: 369–375.
36. Michikado I wata,1 R andy T. C owling,1 D evorah G urantz,1 C ristina Moore,Shen Zhang, Ja son X.-J. Y uan, and B arry H. G reenberg Angiotensin-(1–7) binds to specific receptors on cardiac fibroblasts to initiate antifibrotic and antitrophic effects *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 289: H2356–H2363, 2005.
37. Grobe JL , Der S arkissian S, Stewart JM , Meszaros JG , Raizada M K, Katovich M J. ACE2 overexpression inhibits hypoxia-induced collagen production by cardiac fibroblasts. *Clin Sci (Lond) J* 2007 Oct;113(8):357-64.
38. Shlomo K eidar, A lexander S trizevsky, A yelet R az an d A viva G amliel-Lazarovich ACE2 activity is increased in monocyte-derived macrophages from prehypertensive subjects *Nephrol Dialysis Transplant* 2007 22(2):597-601
39. Ferrario C. et al. Characterization of Angiotensin – (1-7) in Urine of Normal Essential Hypertensive Subjects. *Am J Hypertension* 1998;11: 137-146
40. Ursula Danilczyk, Josef M. Penninger Angiotensin-Converting Enzyme II in the Heart and the Kidney *Circ Res.* 2006;98:463-471.
41. Lawrence S. Zisman, MD; Rebecca S. Keller, PhD; Barbara Weaver, MS; Qishan Li n, P hD; R obert S peth, P hD; M ichael R. B ristow, M D, P hD; Charles C. Canver, M D Increased Angiotensin-(1-7)–Forming Activity in Failing Human Heart Ventricles Evidence for Upregulation of the Angiotensin-Converting Enzyme Homologue ACE2 *Background—The*

- formation of angiotensin-(1-7) from either angiotensin (Ang) I or Ang II in failing human hearts *Circulation*. 2003;108:1707-1712.
42. Epelman S. et al. Detection of Soluble Angiotensin-Converting Enzyme 2 in Heart Failure. *JACC* Vol.52, No.9, 2008:750-54.
43. Burrell Goulter AB, Goddard M J, Allen JC, Clark KL. ACE2 gene expression is up-regulated in the human failing heart. *BMC Med* 2004;2:19.
44. Langeveld B, Wiek, René A, Zijlstra F., Roks A. Angiotensin (1-7) Attenuates Neointimal Formation after Stent Implantation in the rat. *Hypertension* 2005; 45;138-141.
45. Ferrario CM, Jessup J, Chappell MC, Averill DB, Brosnihan KB, Tallant EA, Diz DI, Gallagher P Effect of angiotensin-converting enzyme inhibition and angiotensin II receptor blockers on cardiac angiotensin-converting enzyme 2. *Circulation*, 2005 May 24;111(20):2605-10.
46. Katovich M J, Grobe JL, Huentelman M, Raizada M K. Angiotensin-converting enzyme 2 as a novel target for gene therapy for hypertension. *Exp Physiol*. 2005 May;90(3):299-305.
47. Ferreira A. y Raizada M. Genomic and proteomic approaches for Targeting of Angiotensin-converting Enzyme 2 for Cardiovascular Diseases. *Curr Opp Cardiol* 2008, 23; 364-369
48. Ibrahim F. Benter, Mariam H. M. Yousif, Constantin C ojolcel, May Al-Maghrebi, and Debra I. Diz. Angiotensin-(1-7) prevents diabetes-induced cardiovascular dysfunction *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 292: H666-H672, 2007

49. Huang L, Sexton DL, Skogerson K, Devlin M, Smith R, Sanyal I, Parry T, Kent R, Enright J, Wu Q-L, Conley G, DeOliveira D, Morganelli L, Ducar M, Wescott C R, Ladner R C. Novel peptide inhibitors of an angiotensin-converting enzyme 2. *J Biol Chem.* 2003;278:15532–15540.
50. De Mello W., Ferrario CM, Jessup JA. Beneficial versus Harmful Effects of Angiotensin-(1-7) on Impulse Propagation and Cardiac Arrhythmias in the Failing Heart. *Jour Renin Ang Aldos Syst.* Vol 8 No. 2, 2007; 874 – 80.
51. Villari, Bruno; Vassalli, Giuseppe; Monrad, E. Scott; Chiariello, Massimo; Turina, Marko; Hess, Otto M. Valvular Heart Disease/Ventricular Function: Normalization of Diastolic Dysfunction in Aortic Stenosis Late After Valve Replacement. *Circulation.* 1995; 91(9):2353-2358.
52. D E Newby, S J Cowell and N A Boon Emerging medical treatments for aortic stenosis: statins, angiotensin converting enzyme inhibitors, or both? *Heart* 2006;92;729-734
53. Haulica I., Bild W. and Serban D. Review: Angiotensin Peptides and their Pleiotropic Actions. *J Renin Ang Aldost Syst* 2005; 6; 121
54. Chappell, Mark C.; Ferrario, Carlos M Angiotensin-(1-7) in hypertension. *Curr Opin Nephrol and Hypert* :Volume 8(2)March 1999pp 231-235
55. Rossebo A. et al. Intensive Lipid Lowering with Simvastatin and Ezetimibe in Aortic Stenosis. *NEJM.* Sept 27, 2008 . Vol 359; 1343-1356.