

## **Evaluación de una nueva metodología para la detección del compromiso cardíaco y vascular PRECOZ en la Enfermedad de Chagas Indeterminada:**

### **Identificación de microARNs**

#### **I) Situación actual del conocimiento:**

##### ***MicroARN***

Los microARN tienen una longitud de aproximadamente 22 nucleótidos, y actúan como reguladores negativos de la expresión génica ya que inhiben la traducción de ARN mensajeros o promueven la degradación de estos últimos.

Un aspecto especialmente poderoso de la función de los microARN es que microARN individuales pueden regular coordinadamente hasta aproximadamente 200 genes blanco que codifican proteínas con funciones relacionadas (por ejemplo proliferación o metabolismo). Esa característica le permite a un solo microARN modular fenotipos fisiológicos o patológicos complejos a través de la regulación de redes funcionales enteras.

##### ***MicroARN como identificadores de Enfermedad Cardíaca***

El descubrimiento de patrones específicos de expresión de microARN en los corazones de ratones normales y de ratones con enfermedad cardíaca ha dado lugar al concepto que les atribuye un rol esencial en el desarrollo de la enfermedad. Uno de los principales modelos que sustentó esta afirmación es el de ratones sometidos a constricción aórtica en los cuales se observó que la expresión de microARN específicos estaba alterada. También se reportó que muchos de estos mismos patrones de microARN estarían des-regulados en el corazón de pacientes con insuficiencia cardíaca, sugiriéndose de esta manera que los microARN establecerían una firma diagnóstica molecular para la patogénesis cardíaca. Se ha identificado por ejemplo a manera de “firma” que la expresión de los microARN miR-24, miR-125b, miR-195, miR-199a, y miR-214 se halla aumentada tanto en corazones de individuos con insuficiencia cardíaca idiopática como en ratones con constricción aórtica experimental. Finalmente en base a estudios de manipulación genética en ratones, se sabe hoy que los microARN están activamente involucrados en el remodelado, crecimiento, conductancia y contractilidad cardíacas.

Aunque las evidencias son claras acerca del rol de los microARN en la enfermedad cardíaca humana, aún es necesaria la identificación, verificación y validación de cada potencial patrón que sea patognomónico de las distintas situaciones de enfermedad. El rol de los microARN como marcadores o reguladores del proceso patológico requiere aun ser definido para que su uso en un futuro cercano en los procesos diagnósticos pudiese ser generalizado (1)

##### ***Detección de MicroARN***

Los microARN pueden detectarse en el plasma sanguíneo humano, donde son marcadamente estables. Las células de cáncer de próstata humanas injertadas en ratones liberan microARN que entran en la circulación, son fácilmente medibles en el plasma, y pueden diferenciar con certeza los ratones injertados de los controles. Esto ocurre también en humanos, donde los niveles séricos de miR-141 (expresado en cáncer de próstata) puede diferenciar pacientes con cáncer de próstata de controles sanos. Estos resultados establecen que microARN derivados de tumores y detectados en suero o plasma sanguíneo son un enfoque relevante para la detección de cáncer basada en determinaciones hechas en sangre (2)

## **I) Objetivos:**

Generales:

Evaluar la eficacia de microARN para la detección de las alteraciones cardiovasculares precoces en individuos con enfermedad de Chagas indeterminado

Identificar el patrón de microARN característico de cada estrato de severidad del compromiso cardiovascular subclínico en estos pacientes

A nivel de aplicabilidad poblacional otros objetivos a considerarse deben ser:

- Mejorar el diagnóstico para que la enfermedad pueda ser detectada tempranamente
- Propiciar las bases para el desarrollo de tratamientos con drogas que sean seguras, efectivas y económicamente factibles
- Abogar por el apoyo público para enfrentar estas enfermedades que no reciben suficiente atención.

## **III) Hipótesis**

Alteraciones mínimas de la estructura cardíaca -detectadas con funciones avanzadas de equipos de diagnóstico por imágenes existentes en el Centro de Hipertensión Arterial del HUA- se asocian a cambios específicos en el patrón de microARN plasmáticos característicos de daño cardíaco.

### **Resultados esperados**

Se espera detectar microARN plasmáticos específicos como marcadores de alteraciones tempranas mínimas en la estructura cardíaca, que permitan sospechar la presencia de alteraciones compatibles con el inicio de la cardiomiopatía chagásica. Una vez individualizados los microARN marcadores, se espera poder detectarlos en el plasma sanguíneo por técnicas como el Western blot o la PCR (reacción en cadena de la polimerasa), cuyo costo es bajo en relación al de los estudios complejos de diagnóstico por imágenes, y se encuentran disponibles en muchos hospitales públicos. Esto permitiría identificar a aquellos pacientes chagásicos indeterminados (asintomáticos)

que, sin embargo, ya presentan indicios de compromiso cardíaco que no pueden ser identificados en la clínica.

En una fase inicial se realizara el diagnóstico de patrones de MicroARN. El patrón de microARN plasmático se estudiará mediante microarrays comerciales. Utilizando softwares especializados, se compararán los patrones de expresión de microARN de pacientes chagásicos indeterminados, de pacientes con miocardiopatía chagásicas y de voluntarios sanos. Se determinará si existe alguna asociación estadística entre los cambios cardíacos mínimos detectados por análisis de imágenes y la expresión de microARN específicos. Una vez que se hayan identificado microARN como potenciales marcadores de alteraciones cardíacas subliminales, se intentará detectar su presencia en el plasma sanguíneo por técnicas de uso más difundido y más económicas que los microarrays, tales como el Western blot o la PCR.

c) Se identificará en cada individuo de manera ciega a su patrón de microARN, el estado cardiovascular a través de :

- Estudios vasculares no invasivos (según European Society of Cardiology, para definir estructura y función vascular u organo blanco subclínico)
- PET cardíaco (evaluación de estado de inflamación de placa si la hubiera)
- RMN cardíaca (detección de estados de fibrosis subclínicos)
- Ecocardiograma doppler color y ECG (los pacientes contarán con ambos estudios de base para definir su estado subclínico junto a la anamnesis)