

11201
15



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
HOSPITAL DE CARDIOLOGÍA
CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI

DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ANTINUCLEARES
EN PACIENTES CON MIOCARDIOPATÍA DILATADA
IDIOPÁTICA

TESIS DE POSGRADO
PARA OBTENER EL TÍTULO EN LA
ESPECIALIDAD DE: PATOLOGÍA CLÍNICA

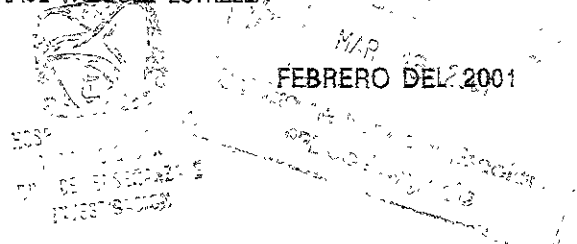
P R E S E N T A :
DR. ANTONIO QUINTERO BAZALDUA

ASESORES: DRA. ROSA MARIA GARCIA ESCAMILLA
DR. MARTIN HORACIO GARRIDO GARDUÑO
Q.B.P. JULIO CESAR JIMENEZ GALICIA
DR. ALONSO PEÑA GONZÁLEZ
DR. RAUL VÁZQUEZ ESTRELLA



MEXICO, D. F.

MAR 12 2001
FEBRERO DEL 2001





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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).

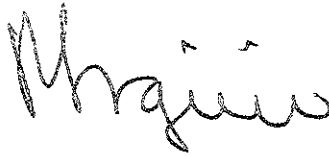
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición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

Vo. Bo.

Dr. Rubén Argüero Sánchez

Director

Hospital de Cardiología del Centro Médico Nacional Siglo XXI



Vo. Bo.

Dr. Juan Carlos Necoechea Alva

Jefe de la División de Educación Médica e Investigación

Hospital de Cardiología del Centro Médico Nacional Siglo XXI

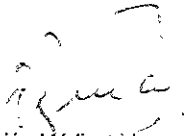


Vo. Bo.

Dr. Alonso Peña González

Subjefe de la División de Educación Médica e Investigación

Hospital de Cardiología del Centro Médico Nacional Siglo XXI

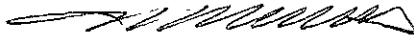


Vo. Bo.

Dra. Rosa María García Escamilla

Profesor Titular del Curso de Posgrado en Patología Clínica

Hospital de Cardiología del Centro Médico Nacional Siglo XXI



INDICE

RESUMEN	4
INTRODUCCIÓN	5
MATERIAL Y MÉTODOS	8
RESULTADOS	10
DISCUSIÓN	11
CONCLUSIONES	13
BIBLIOGRAFÍA	14
AGRADECIMIENTOS	20

RESUMEN

La miocardiopatía dilatada idiopática ocupa el primer lugar en frecuencia dentro de las enfermedades primarias del corazón y actualmente no se sabe con certeza su etiología. Se han informado diversas alteraciones en el sistema inmunológico (humoral y celular); también se han encontrado autoanticuerpos dirigidos contra los receptores β_1 -adrenérgicos del corazón, así como una relación con anticuerpos específicos del sistema HLA de clase II y una disminución en la actividad de los linfocitos supresores y de las células asesinas. En pacientes con miocarditis se observaron anticuerpos antinucleares.

Lo anterior dio pauta para efectuar la búsqueda de anticuerpos antinucleares en pacientes con miocardiopatía dilatada idiopática, la cual se realizó por medio de la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI). Esta técnica se usa principalmente en el diagnóstico y monitoreo de pacientes con lupus eritematoso sistémico, síndrome de Sjogren y otras alteraciones del tejido conectivo.

En nuestro estudio se analizaron 12 muestras de suero, obtenido de pacientes con miocardiopatía dilatada idiopática atendidos en la clínica de insuficiencia cardiaca del Hospital de Cardiología del Centro Médico Nacional Siglo XXI del Instituto Mexicano del Seguro Social. Para investigar la presencia de anticuerpos antinucleares se utilizó la técnica de inmunofluorescencia indirecta. Una fue positiva para anticuerpos antinucleares, lo que representó el 8.3% del total de muestras procesadas.

El resultado obtenido en nuestro estudio indica la necesidad de continuar investigando desde el punto de vista inmunológico a los pacientes con miocardiopatía dilatada idiopática, incluyendo pruebas como la búsqueda de autoanticuerpos dentro de su protocolo de estudios.

INTRODUCCIÓN

La miocardiopatía dilatada es una enfermedad propia del corazón, que de acuerdo a su etiología se puede clasificar en idiopática, que es cuando no existe una causa o una asociación conocida y en secundaria. Las miocardiopatías secundarias pueden tener cinco diferentes causas que son potencialmente reversibles: 1) toxinas; 2) alteraciones metabólicas; 3) infecciones; 4) alteraciones neuromusculares y 5) miocardiopatías familiares.¹

La miocardiopatía dilatada idiopática es una enfermedad primaria del corazón, que no es reversible y que se caracteriza, al igual que las formas reversibles o secundarias por la dilatación del ventrículo izquierdo o de ambos ventrículos, lo que da como resultado cardiomegalia y una contractilidad miocárdica deficiente. Es la más frecuente de las enfermedades primarias del miocardio. Es común la muerte prematura, principalmente de forma súbita, la cual es ocasionada por arritmias ventriculares o isquemia. En los Estados Unidos de América se han informado 36 casos por cada 100,000 habitantes, provocando aproximadamente 10,000 muertes al año, con una mayor incidencia en hombres de raza negra.^{2,4} La causa de la miocardiopatía dilatada idiopática es desconocida y se cree que la dilatación ventricular puede ser ocasionada por: 1) un alargamiento de los miocitos, 2) el desprendimiento lateral de células dentro de la pared ventricular, ó 3) la acumulación en serie de miocitos recién formados, incluso puede ser originada por estos tres factores en conjunto.^{1, 2} Se realizaron diversos estudios en los que se determinó que hay un aumento en el total de la colágena miocárdica, principalmente de la colágena tipo I.⁵ Limas y colaboradores publicaron un estudio en el que se detectaron autoanticuerpos dirigidos específicamente contra los receptores β_1 -adrenérgicos del corazón de pacientes con miocardiopatía dilatada idiopática, los cuales podrían jugar un papel importante en la regulación de la sensibilidad inotrópica de los β -agonistas.⁶ Existen cuatro mecanismos básicos que intervienen en la patogénesis de la enfermedad 1) factores genéticos y

familiares; 2) miocarditis viral y miocarditis ocasionada por otras sustancias citotóxicas; 3) alteraciones en el sistema inmunológico y 4) anomalías metabólicas, energéticas y de la contractilidad.² En la actualidad se sabe que existen diversas alteraciones en el sistema inmunológico, tanto celular como humoral, que están involucradas en la miocardiopatía dilatada idiopática, sin embargo, aun no se sabe si estas alteraciones son consecuencia o causa de la enfermedad. Por ejemplo, en el lupus neonatal, los anticuerpos maternos contra el antígeno Ro/SSA atraviesan la barrera placentaria ocasionando una miocardiopatía dilatada idiopática en el recién nacido.⁴ Se ha observado también que hay una disminución en la actividad normal de los linfocitos supresores y de las células asesinas naturales, las cuales actúan como un mecanismo de defensa antiviral. La asociación entre la miocardiopatía dilatada idiopática y los antígenos específicos HLA de clase II (DR4 y DQ), apoya la hipótesis del origen inmunológico de esta enfermedad. La activación de los linfocitos T puede deberse a interacciones con antígenos externos, como los virus o con expresiones alteradas de antígenos HLA sobre los miocitos, lo que puede originar linfocitos T citotóxicos o autoanticuerpos, que son capaces de alterar o destruir a los miocitos.^{2,3}

En 1954, Weller y Coons introdujeron la técnica de inmunofluorescencia indirecta para la búsqueda de autoanticuerpos, esta prueba se utiliza para el diagnóstico y el pronóstico de la mayoría de las enfermedades del tejido conectivo, en las que se puede observar una respuesta característica del sistema inmunológico humoral, con autoanticuerpos dirigidos hacia los diferentes componentes del núcleo celular. También facilita el seguimiento clínico y terapéutico de enfermedades como el lupus eritematoso sistémico o el síndrome de Sjogren. En la inmunofluorescencia indirecta se usa un anticuerpo fluorescente que sirve como marcador para una reacción ligada antígeno-anticuerpo, la cual ocurre en la superficie de un substrato, como las células de riñón y estómago de ratón, células humanas epiteliales (HEp-2) o un hemoflagelado como la *Crithidia luciliae*. Para observar los resultados obtenidos se utiliza un microscopio de fluorescencia con el que se podrán visualizar las estructuras nucleares

o citoplásmicas con una fluorescencia de color verde manzana o de color rojo. Cuando se utilizan células Hep-2 como sustrato para la búsqueda de anticuerpos antinucleares, se pueden observar cinco diferentes patrones de fluorescencia que indican la presencia de estos anticuerpos: 1) homogéneo; 2) periférico; 3) moteado (fino, grueso o separado); 4) nucleolar y 5) en huso. Estos patrones de inmunofluorescencia indican la presencia de autoanticuerpos que proporcionan un patrón específico en un paciente con una enfermedad autoinmune. Personas sanas, personas de más de 60 años de edad, el embarazo y pacientes con otras enfermedades de origen no inmunológico pueden presentar anticuerpos similares, los cuales generalmente se van a encontrar en títulos más bajos que los encontrados en las enfermedades autoinmunes, aunque frecuentemente preceden al inicio de esta clase de padecimientos en individuos sanos o que han estado asintomáticos por muchos años.^{7, 8} Swaak y colaboradores encontraron anticuerpos antinucleares en pacientes con miocarditis.¹³ El valor diagnóstico de cualquier determinación de autoanticuerpos depende, en gran parte, de la presentación clínica de la enfermedad en el paciente y este debe ser considerado cuidadosamente en el contexto de la información clínica obtenida.^{9, 10, 11, 12} El objetivo del presente estudio es investigar si existen anticuerpos antinucleares en 12 pacientes con miocardiopatía dilatada idiopática.

MATERIAL Y MÉTODOS

En el Laboratorio Central de Análisis Clínicos del Hospital de Cardiología del Centro Médico Nacional se tomaron muestras de sangre venosa a 12 pacientes con diagnóstico de miocardiopatía dilatada idiopática de la clínica de insuficiencia cardiaca del mismo Hospital de Cardiología, que cumplían con los criterios de inclusión y de exclusión de nuestro estudio (cuadro 1). Las muestras se centrifugaron para obtener el suero, el cual se congeló a -20°C hasta su traslado a la sección de Inmunología del Laboratorio de Análisis Clínicos del Hospital General de Zona No. 8, con el objeto de investigar la presencia de anticuerpos antinucleares en pacientes con miocardiopatía dilatada idiopática.

Las muestras obtenidas fueron analizadas con la técnica de inmunofluorescencia indirecta, usando para ello un kit comercial de la marca DiaSorin con células Hep-2 como sustrato. El fundamento de la prueba consiste en la unión de los autoanticuerpos contenidos en la muestra de análisis a los antígenos homólogos en el sustrato. El antisuero fluoresceína conjugado agregado al sustrato se une al autoanticuerpo ligado, lo que proporciona los distintos patrones de fluorescencia.

Las muestras de suero fueron descongeladas a temperatura ambiente y se prepararon diluciones con una parte de suero más 39 partes de un buffer salino de fosfato (BSF). Se colocaron las laminillas con los pocillos que contienen el sustrato dentro de una cámara húmeda; se añadieron 25 μl del suero diluido en cada pocillo, se cubrió la cámara y se dejó incubar por 30 minutos. Se lavó con BFS y se agregó el antisuero fluoresceína conjugado, se dejó incubar otros 30 minutos en la cámara húmeda, después se lavó nuevamente con BFS y finalmente se agregó el colorante (azul de Evans), dejando incubar por 15 minutos para leer los resultados con un microscopio de fluorescencia.

Al momento de hacer esta técnica siempre hay que agregar controles, uno positivo y otro negativo, los cuales vienen contenidos en el kit comercial.

En nuestro estudio se consideró como resultado positivo la presencia de cualquiera de los cinco patrones de fluorescencia que se pueden presentar usando células Hep-2 como sustrato; en este caso se observó un patrón homogéneo.

Para el análisis estadístico de la información obtenida se hicieron cálculos de porcentaje, tomando en cuenta el número de muestras procesadas y los resultados obtenidos en nuestra investigación, que en este caso se trata de un estudio descriptivo y observacional de tipo transversal.

RESULTADOS

De los pacientes incluidos en este estudio, 7 fueron hombres (58.3%) y 5 fueron mujeres (41.7%) (gráfica 1); con rangos de edad de 15 a 55 años (gráfica 2). Los anticuerpos antinucleares estuvieron presentes en un paciente, lo que representa el 8.3% (gráfica 3).

DISCUSIÓN

En la literatura citada en este estudio, no se encontró ninguna información relacionada con la búsqueda de anticuerpos antinucleares en pacientes con miocardiopatía dilatada idiopática, por lo que nuestro resultado se puede considerar como original, esto ocasionó que no se pueda establecer comparación con otros autores en base en lo descrito. Contrario a lo anterior si se observó concordancia entre el resultado de nuestro estudio y las investigaciones que señalan una relación de la miocardiopatía dilatada idiopática con antígenos del sistema HLA, con autoanticuerpos dirigidos contra los receptores β_1 -adrenérgicos y con la disminución en la actividad de los linfocitos supresores y células asesinas.

Para el diagnóstico de la miocardiopatía dilatada idiopática se han hecho otras pruebas de laboratorio, como la serología para la enfermedad de Chagas y la serología para citomegalovirus. También se ha investigado el papel que juegan ciertos oligoelementos como el selenio, sin embargo, aun no se encuentra una relación directa demostrable que pueda orientar de manera contundente a la etiología de la miocardiopatía dilatada idiopática, pese a que se siguen presentando casos de pacientes con esta enfermedad.

Con relación a la edad del paciente que presentó la prueba positiva, se observa que es un adulto joven, pues la mayoría de los pacientes incluidos en este estudio están entre los 30 y los 40 años de edad, no encontrándose pacientes menores de 15 años, es decir, individuos en plena edad de productividad, que se ven frecuentemente afectados e incapacitados por la miocardiopatía dilatada idiopática, con deterioro progresivo de su calidad de vida. Consideramos que esta totalmente justificado estudiar a estos pacientes desde los puntos de vista clínico, de laboratorio y de gabinete con el fin de ayudar a su diagnóstico y tratamiento adecuados; además de contar con las suficientes herramientas que permitan mejorar su atención integral.

Los múltiples estudios que se han realizado hasta la fecha, tanto en las ciencias básicas como en las clínicas, han dado como resultado la identificación definitiva de muchos antígenos intracelulares, los cuales son el blanco de autoanticuerpos en pacientes con enfermedades relacionadas con autoinmunidad, sin embargo, hoy en día muchos antígenos y muchos anticuerpos específicos en las enfermedades de los humanos no han sido descubiertos y la inmunofluorescencia indirecta podría ser el método de elección para hacer estos nuevos descubrimientos.

CONCLUSIONES

- La prevalencia de anticuerpos antinucleares positivos en pacientes con miocardiopatía dilatada idiopática en este estudio fue del 8.3%
- Describimos por primera vez en la literatura la presencia de anticuerpos antinucleares en pacientes con miocardiopatía dilatada idiopática
- Finalmente, se considera importante y necesario ampliar el universo de trabajo, aunque el grupo que se estudio reúne criterios estrictos y protocolizados por lo que consideramos que debe realizarse la búsqueda de anticuerpos antinucleares en pacientes con diagnóstico presuntivo de miocardiopatía dilatada idiopática, con el fin de dar otras alternativas de tratamiento, pues hay que considerar que el tratamiento definitivo para esta enfermedad es el trasplante de corazón.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) Beltrami CA, Finato N, Rocco M, et al The cellular basis of dilated cardiomyopathy in humans. *Mol Cell Cardiol* 1995; 27:291-305
- 2) Dec GW y Fuster V: Idiopathic dilated cardiomyopathy. *N Engl J Med* 1994; 331:1564-1575.
- 3) Carlquist J F, Menlove R L, Murray M B, et al HLA class II (DR and DQ) antigen associations in idiopathic dilated cardiomyopathy. *Circulation* 1991; 83:515-522.
- 4) Bachinski L L y Roberts R: Causes of dilated cardiomyopathy. *Cardiol Clin* 1998; 16:603-610.
- 5) Higuchi M L, Fukasawa S, De Brito T, et al Different microcirculatory and interstitial matrix patterns in idiopathic dilated cardiomyopathy and Chagas' disease: a three dimensional confocal microscopy study. *Heart* 1999; 82:279-285
- 6) Limas C J, Goldenberg F I y Limas C Autoantibodies against β -adrenoceptors in human idiopathic dilated cardiomyopathy. *Circulation Research* 1989; 64 97-103
- 7) Von Mühlen C A y Tan E M Autoantibodies in the diagnosis of systemic rheumatic diseases. *Semin Arthritis Rheum* 1995; 24:323-358.
- 8) Tan E M, Feltkamp T E W, Smolen J S, et al: Range of antinuclear antibodies in "healthy" individuals. *Arthritis Rheum* 1997; 40:1601-1611.
- 9) Emlen W y O'Neill L: Clinical significance of antinuclear antibodies. *Arthritis Rheum* 1997; 40:1612-1618
- 10) Slater C A, Davis R B, Shmerling R H Antinuclear antibody testing: a study of clinical utility. *Arch Intern Med* 1996; 156:1421-1425
- 11) Richardson B y Wallace V E: Utility of the fluorescent antinuclear antibody test in a single patient. *Ann Intern Med* 1981; 95:333-338.

- 12) Thomas C y Robinson J A. The antinuclear antibody test. When is a positive result clinically relevant?. *Postgrad Med* 1993; 94:55-66
- 13) Swaak A J G, Huysen V, Smeenk R J T. Antinuclear antibodies in routine analysis: the relevance of putative clinical associations. *Ann Rheum Dis* 1993; 52:110-114

DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ANTINUCLEARES EN PACIENTES CON
MIOCARDIOPATÍA DILATADA IDIOPÁTICA

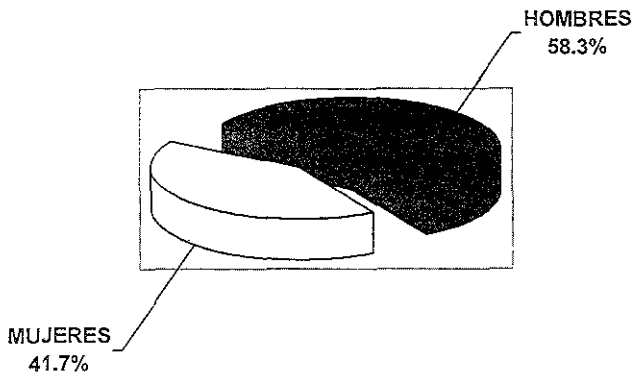
CUADRO 1

<u>CRITERIOS DE INCLUSIÓN</u>	<u>CRITERIOS DE NO INCLUSIÓN</u>	<u>CRITERIOS DE EXCLUSIÓN</u>
PACIENTES HOMBRES O MUJERES	PACIENTES QUE NO ACEPTEN INGRESAR AL ESTUDIO	PACIENTES QUE NO SE PUEDAN PUNCIÓNAR
EDADES DE 15 A 55 AÑOS DE EDAD	CON ENFERMEDADES AUTOINMUNES O DE LA COLÁGENA	MUESTRAS DE SUERO LIPEMICO O HEMOLIZADO
CON DIAGNÓSTICO DE MIOCARDIOPATÍA DILATADA IDIOPÁTICA	CON ENFERMEDADES GENÉTICAS	
	CON ENFERMEDADES INFECCIOSAS	
	CON ENFERMEDADES HEPÁTICAS, PULMONARES, DERMATOLÓGICAS, HEMATOLÓGICAS U ONCOLÓGICAS	
	CON DIABETES MÉLLITUS O TRANSPLANTADOS	
	MUJERES EMBARAZADAS	

Crterios de inclusión, de no inclusión y de exclusión

DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ANTINUCLEARES EN PACIENTES CON
MIOCARDIOPATÍA DILATADA IDIOPÁTICA

GRAFICA 1



n=12

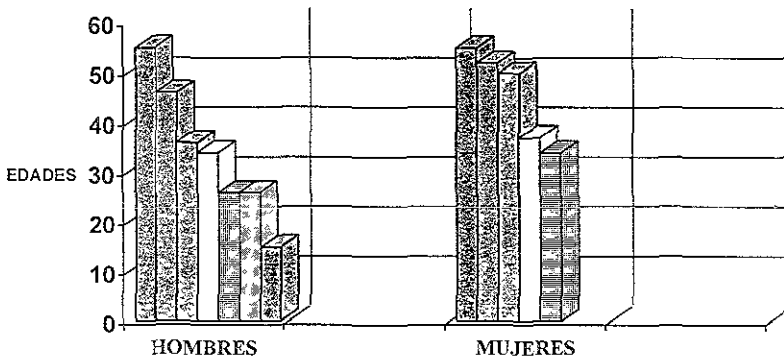
7 HOMBRES

5 MUJERES

Distribución de pacientes por sexo.

DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ANTINUCLEARES EN PACIENTES CON
MIOCARDIOPATÍA DILATADA IDIOPÁTICA

GRAFICA 2

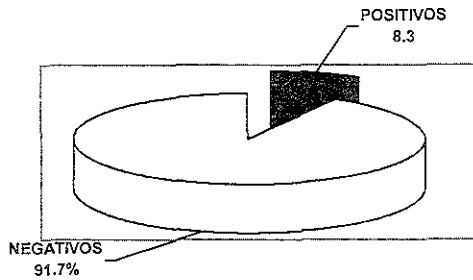


n=12

Distribución de pacientes por rango de edad.

DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ANTINUCLEARES EN PACIENTES CON
MIOCARDIOPATÍA DILATADA IDIOPÁTICA

GRAFICA 3



n=12

1 POSITIVO

11 NEGATIVOS

Porcentaje de pacientes positivos.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

AGRADECIMIENTOS

A Leonarda y a Rocio, por lo que fui, por lo que soy y por lo que seré.

A Paulina, por su apoyo, tanto en las buenas como en las malas.

A Rosa María, por su amistad, por su confianza y por su tolerancia.

Al Q. B. P. Julio Cesar Jiménez Galicia, por su invaluable ayuda en la realización de este estudio.

Al Hospital General "Dr. Fernando Quiroz Gutiérrez" del ISSSTE, porque dentro de su servicio de Urgencias adquirí la destreza necesaria para desarrollarme como Médico

A la Música, por su grandiosa compañía desde mi adolescencia