



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
E INVESTIGACIÓN**



**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UNIDAD MÉDICA DE ALTA ESPECIALIDAD
HOSPITAL DE CARDIOLOGÍA
CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI**

TÍTULO DE TESIS

**ASOCIACIÓN ENTRE NIVELES DE EXPRESIÓN RELATIVA DEL RECEPTOR
COXSACKIEVIRUS-ADENOVIRUS (CAR) Y EVENTOS CARDIOVASCULARES
ADVERSOS MAYORES EN PACIENTES CON MIOCARDITIS EN LA UMAE
HOSPITAL DE CARDIOLOGÍA CMN SIGLO XXI**

**PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALISTA EN:
CARDIOLOGÍA**

PRESENTA:

DR. RODRIGO NÚÑEZ MÉNDEZ

TUTORES DE TESIS:

DR. ANIBAL EDUARDO CRUZ MONTALVO

DR. LUIS ANTONIO MORENO RUIZ

CIUDAD DE MÉXICO

**FACULTAD DE MEDICINA
DIRECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
DIRECCIÓN DE PRESTACIONES MÉDICAS**

CIUDAD DE MÉXICO, 2021



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.

Identificación de los investigadores participantes:

Investigador Responsable:

Nombre: MD. Aníbal Eduardo Cruz Montalvo.

Adscripción: Unidad de Cuidados Intensivos Cardiovasculares.

Lugar de trabajo: UMAE Hospital de Cardiología, CMN-SXXI, IMSS.

Dirección: Av. Cuauhtémoc 330. Col. Doctores, Ciudad de México. CP 06720.

Teléfono: 56276900 ext. 22100 y 22102

Correo electrónico: anibal_ecm@yahoo.com.mx

Investigadores Asociados:

Nombre: MD. Luis Antonio Moreno Ruiz

Adscripción: Segundo Piso de Hospitalización.

Lugar de trabajo: UMAE Hospital de Cardiología, CMN-SXXI, IMSS.

Dirección: Av. Cuauhtémoc 330. Col. Doctores, Ciudad de México. CP 06720

Teléfono: 56276900 ext. 22100 y 22102

Correo electrónico: luismorenomd@hotmail.com

Nombre: Dra. María Guadalupe Cárdenas Mondragón.

Adscripción: Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias.

Lugar de trabajo: UMAE Hospital de Pediatría, Dr. Silvestre Frenk Freund, CMN-SXXI, IMSS.

Dirección: Av. Cuauhtémoc 330. Col. Doctores, Ciudad de México. CP 06720

Teléfono: 56276900 ext. 22407.

Correo electrónico: carlupita@yahoo.com.mx

Nombre: MD. Cesar Antonio Flores García

Adscripción: Servicio de Patología, UMAE Hospital de Cardiología del CMN-SXXI.

Lugar de trabajo: UMAE Hospital de Cardiología del CMN-SXXI.

Dirección: Av. Cuauhtémoc 330. Col. Doctores, Ciudad de México. CP 06720

Teléfono: 56276900 ext. 22046 y 22047.

Correo electrónico: cafg_oe@hotmail.com

Nombre: MD. Rodrigo Núñez Méndez

Adscripción: Médico residente especialidad de Cardiología, Universidad Nacional Autónoma de México

Lugar del curso: UMAE Hospital de Cardiología, CMN-SXXI, IMSS.

Teléfono: 6861135892

Correo electrónico del Alumno: dr.rodigonunez@hotmail.com

Vínculo con tesis de especialidad:

Área: Cardiología

Nombre del alumno: Rodrigo Núñez Méndez

Nombre del tutor: MD. Aníbal Eduardo Cruz Montalvo

ÍNDICE PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN		
	Capítulos	Pág.
I	Resumen	4
II	Marco Teórico	6
III	Justificación	22
IV	Planteamiento del Problema y Pregunta de Investigación	23
V	Objetivo General	24
VI	Hipótesis	25
VII	Material y Métodos	26
	<ul style="list-style-type: none"> • Diseño de la investigación • Lugar donde se realizó el estudio • Diseño de la muestra • Tamaño de muestra • Definición y clasificación de las variables • Métodos • Análisis estadístico de los datos 	26 26 27 27 29 34 37
VIII	Aspectos Éticos	39
IX	Aspectos de Bioseguridad	40
X	Recursos, Financiamiento y Factibilidad	42
XI	Resultados	43
	<ul style="list-style-type: none"> • Descripción general de la población estudiada • Comparación entre expresión relativa baja y alta de CAR • Magnitud de la asociación de la expresión relativa de CAR 	43 45 48
XII	Discusión	50
XIII	Limitaciones del Estudio	52
XIV	Conclusiones	53
XV	Referencias Bibliográficas	54
XVI	Anexos	60

I. Resumen:

Título: Asociación entre Niveles de Expresión Relativa del Receptor Coxsackievirus-Adenovirus (CAR) Y Eventos Cardiovasculares Adversos Mayores en Pacientes con Miocarditis en la UMAE Hospital de Cardiología CMN Siglo XXI

Antecedentes: La miocarditis es una patología con gran espectro clínico, que va desde cursar asintomática hasta cursar con falla cardíaca fulminante. Su incidencia estimada en México es de 1/1,000 ingresos/año. Afecta principalmente a pacientes jóvenes, económicamente activos, por lo que su progresión a miocardiopatía dilatada y/o la muerte representa un gran impacto. En México, hay un solo estudio que se encaminó a determinar características de biología molecular que pudieran tener implicación en el curso de la enfermedad. El receptor de coxsackievirus y adenovirus (CAR) es una molécula multifuncional que interactúa con proteínas involucradas en la comunicación celular, la adhesión, la unión al citoesqueleto, la regulación y la transducción de señales, y recientemente se ha implicado en la remodelación cardíaca y la conducción eléctrica auriculoventricular. La transcripción del CAR se sobre-expresa en pacientes con cardiomiopatía dilatada (CMD) y cardiopatía isquémica. Con respecto al rendimiento del CAR en presencia de miocarditis, la mayoría de la información se deriva de estudios en animales. Existe una cantidad limitada de estudios sobre la expresión del CAR en pacientes con miocarditis activa, y solo unos pocos casos se han incluido en la muestra final de protocolos con CMD. García-Becerril & Cruz-Montalvo valoraron la asociación entre los niveles de ARNm del CAR y la respuesta a la terapia inmunosupresora o convencional así como con el tipo de miocarditis histológica identificando que los pacientes que respondieron a la terapia exhibieron niveles más altos de ARNm de CAR en comparación con los pacientes que no respondieron al tratamiento.

Objetivo: Determinar si existe una asociación entre en los niveles de expresión relativa de CAR en muestras de tejido endomiocárdico de pacientes con miocarditis y el desarrollo de eventos cardiovasculares adversos mayores.

Material y Métodos: Se estudiarán pacientes de cualquier género con edad mayor de 18 años derechohabientes del Instituto Mexicano del Seguro Social con diagnóstico de Miocarditis en el Hospital de Cardiología del Centro Médico Nacional Siglo XXI de acuerdo a los hallazgos de biopsias endomiocárdicas. De estas muestras de tejido endomiocárdico se extraerá el RNA para determinar el grado de expresión relativa de CAR por la técnica de RT-PCR en tiempo real (qRT-PCR). La expresión relativa de CAR será calculada utilizando la expresión de CAR y el nivel de gen *B-Actina* determinado para cada muestra. De los expedientes clínicos se obtendrá información acerca de la presentación clínica de la miocarditis al momento del diagnóstico. Para su análisis se clasificará la muestra en dos grupos, pacientes con miocarditis activa o límite con expresión relativa de CAR y sin expresión relativa de CAR. Posteriormente se evaluará la relación entre los

niveles de expresión de CAR con el desarrollo de eventos cardiovasculares mayores. *Análisis Estadístico:* Las diferencias en la expresión de CAR de los dos grupos se compararán mediante la prueba t de Student o la prueba de Mann-Whitney-U, según la normalidad de los datos. Las variables clínicas categóricas se compararán con la prueba exacta de Fisher o la prueba de chi-cuadrado. La relación entre la producción y severidad por el coeficiente de correlación de Pearson. El punto final primario será el tiempo hasta el primer evento cardiovascular adverso mayor. Para estimar el tamaño del efecto, se calcularán los odds ratios (OR) con intervalos de confianza (IC) del 95% con el uso de modelos de regresión logística.

Recursos e Infraestructura: En el Departamento de Patología del Hospital de Cardiología se cuenta con un banco de muestras de tejido endomiocárdico embebido en parafina con las cuales se trabajará en este proyecto; así mismo en la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias del Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI, se dispone del equipo necesario para su procesamiento.

Experiencia del Grupo: Actualmente el grupo de trabajo incluye al Dr. Cruz Montalvo, que fungirá como responsable del protocolo, con especialidad en Cardiología y doctorado en alta dirección, quien tiene experiencia en el diagnóstico y manejo terapéutico de pacientes con miocarditis y en el área de Investigación; al Dr. Núñez Méndez quién es residente del curso de especialización en Cardiología y se encuentra en convivencia estrecha con pacientes con dicha patología, vigilando su evolución clínica; al Dr. Moreno Ruiz, con especialidad en Cardiología, maestría en ciencias y doctorado en alta dirección; el Dr. Cesar Antonio Flores García, Jefe del Servicio de Patología de la UMAE Hospital de Cardiología como médico anatomopatólogo y a la Dra. Cárdenas-Mondragón, doctora en ciencias con especialidad en inmunología, ha llevado a cabo estudios de investigación básica con correlación clínica en diversas especialidades de la medicina, incluida Cardiología, con múltiples publicaciones de impacto internacional premiadas a nivel nacional.

II. Marco Teórico:

Definición y Epidemiología:

La miocarditis se define como una infiltración inflamatoria del miocardio con necrosis y/o degeneración asociada. La enfermedad también se conoce como miocardiopatía inflamatoria o miocarditis con disfunción cardíaca en la clasificación de 1995 de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para la miocardiopatía (1).

La incidencia y prevalencia de miocarditis no están claras; el síndrome está subdiagnosticado debido a la gran cantidad de casos asintomáticos. En México se estima se presenta un caso por cada 1000 ingresos/año (2). Como referencia en población europea tiene una incidencia del 0.12 al 12% en autopsias de población general (3); y se ha identificado en 8.6 a 12% de los casos de muerte súbita en adultos jóvenes (4), incluso se reporta en el 20% de los casos de muerte súbita en atletas jóvenes (5). Mundialmente se estima una prevalencia de 1-9% y una incidencia de 0.46-0.72 por 100,000 habitantes al año (6).

La miocarditis se puede clasificar según criterios clínico-patológicos e histológicos, se describen dichas clasificaciones:

A. Clasificación clínico-patológica:

1. Miocarditis Fulminante (17%) generalmente tiene un inicio distintivo. Puede provocar una resolución completa y espontánea o un rápido deterioro y muerte debido a un compromiso cardíaco severo. Por lo general, hay múltiples focos activos de infiltrado inflamatorio en histología con resolución completa.
2. Miocarditis Aguda (65% de los casos de miocarditis) tiene un inicio indistinto, con compromiso cardiovascular moderado y recuperación incompleta, lo que a menudo resulta en disfunción cardíaca o muerte posterior. Histológicamente, hay infiltrados inflamatorios activos o límite que se resuelven por completo con el tiempo.
3. Miocarditis Crónica Activa (11% de los casos de miocarditis) tiene una presentación similar a la de la miocarditis aguda, pero la forma crónica generalmente progresa a disfunción cardíaca leve o moderada, ocasionalmente con fisiología restrictiva. El examen histológico a menudo muestra fibrosis en curso, lo que sugiere cambios inflamatorios crónicos.
4. Miocarditis Crónica Persistente (7% de los casos de miocarditis) tiene un inicio indistinto, con infiltrados inflamatorios activos o limítrofes no resueltos observados en el examen histológico. Por lo general, no hay compromiso cardiovascular.

B. Clasificación histológica también llamada Clasificación de Dallas 1986 (7)

1. Biopsia Inicial:

- a) Miocarditis activa: necrosis o degeneración miocárdica, o ambas, en ausencia de enfermedad arterial coronaria significativa con infiltrados inflamatorios adyacentes o fibrosis, o ambas.

- b) Miocarditis limítrofe: infiltrados inflamatorios demasiado escasos o daño a miocitos no aparente.
- c) Sin miocarditis: sin infiltrados inflamatorios o daño a los miocitos.

2. Biopsia Subsecuente:

- a) Miocarditis o fibrosis en curso (persistente), o ambas
- b) Resolviendo (curando) miocarditis o fibrosis, o ambas
- c) Miocarditis o fibrosis resuelta (curada), o ambas

C. Organización Mundial de la Salud (criterios de Marbug, 1996): Debe incluir un mínimo de 14 leucocitos infiltrantes por mm², preferiblemente linfocitos T CD3 (>4 por mm²), y hasta cuatro macrófagos por mm² (1).

La miocarditis puede ser causada por una gran variedad de enfermedades infecciosas y no infecciosas (ver tabla 1), sin embargo, hasta el 50% de todos los casos pueden no tener una causa subyacente clara (es decir, casos idiopáticos). Se acepta que el origen infeccioso del tipo viral representa las causas más frecuentes, particularmente en niños (8). Existe coinfección en un 25-30% de los casos, lo cual modifica la respuesta inmunológica del paciente induciendo así mayor remodelación cardíaca (9).

Tabla 1. Causas de miocarditis / miocardiopatía inflamatoria

Causas de miocarditis / miocardiopatía inflamatoria	
1. Miocarditis Infecciosa	
Bacteriano	Staphylococcus, Streptococcus, Pneumococcus, Meningococcus, Gonococcus, Salmonella, Corynebacterium diphtheriae, Haemophilus influenzae, Mycobacterium (tuberculosis), Mycoplasma pneumoniae, Brucella
Espiroquetas	Borrelia (Enfermedad de Lyme), Leptospira (Enfermedad de Weil)
Fungica	Aspergillus, Actinomyces, Blastomyces, Candida, Coccidioides, Cryptococcus, Histoplasma, Mucormycoses, Nocardia, Sporothrix
Protozoarios	Trypanosoma cruzi, Toxoplasma gondii, Entamoeba, Leishmania
Parasitico	Trichinella spiralis, Echinococcus granulosus, Taenia solium
Rickettsial	Coxiella burnetii (Fiebre Q), R. Rickettsii (Fiebre de las Montañas Rocallosas), R. tsutsugamuschi
Viral	Virus ARN: Coxsackieviruses A & B, echoviruses, poliovirus, influenza A & B, virus sincitial respiratorio, virus del sarampion, virus de la viruela, virus rubeola, virus hepatitis, virus del dengue, virus de la fiebre amarilla, virus del Chikungunya, Junin virus, virus fiebre de Lassa, virus de rabia, HIV Virus ADN: adenoviruses, parvovirus B19, citomegalovirus, herpes virus-6, virus Epstein-Barr, virus varicela-zoster, virus herpes simple

2. Miocarditis mediada por inmunidad
<p>Alergenos Toxoide tetánico, vacunas, enfermedad del suero. Drogas: Penicilina, cefaclor, colchicina, furosemide, isoniacida, lidocaina, tetraciclina, sulfas, fenitoina, metildopa, diureticos tiazidos, amitriptilina</p>
<p>Aloantigenos Rechazo a transplante cardiaco</p>
<p>Autoantigenos Miocarditis Linfocitica, Miocarditis de Celulas Gigantes Asociado a procesos autoinmunes: LES, AR, Churg-Strauss, Enfermedad de Kawasaki, Enfermedad inflamatoria intestinal, escleroderma, polimiositis, miastenia gravis, diabetes insulino-dependiente, tirotoxicosis, sarcoidosis, granulomatosi de Wegener, fiebre reumatica.</p>
3. Miocarditis Tóxica
<p>Drogas: Anfetaminas, antraciclicos, cocacina, ciclofosfamida, etanol, fluoruracilo, litio, catecolaminas, trastuzumab, interleucina 2 Metales pesados: Cobre, hierro, plomo Hormonas: Beri-beri, feocromocitoma Agentes fisicos: Electricidad, Radiación Miscelaneo: Piquete de escorpion, vibora, araña, avispon, intoxicación por monoxido de carbono, inhalantes, fosforo, arsenico.</p>

Fuente: Caforio ALP, Pankewit S, Arbustini E, et al. Current state of knowledge on aetiology, diagnosis, management, and therapy of myocarditis: a position statement of the European Society of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. Euro Heart J 2013;34:2636-2648.

Se ha identificado un amplio espectro de genomas virales en las muestras endomiocárdicas de pacientes con sospecha clínica de miocarditis o miocardiopatía dilatada por reacción en cadena de la polimerasa e hibridación in situ específica del virus, que incluye enterovirus, parvovirus B19 (PVB19), adenovirus, virus de la gripe A, virus del herpes humano tipo 6 (HHV-6), virus de Epstein-Barr, citomegalovirus, virus de la hepatitis C y VIH (Tabla 2) (10).

Tabla 2. Estudios que investigan la prevalencia viral en pacientes con miocarditis

Estudio	Año	PVB,%	EV,%	AV,%	HSV,%	EBV,%	CMV,%	HHV,%	Notas
Kandolf et al ⁽¹¹⁾	1991	ND	24.2	ND	ND	ND	ND	ND	23/95 (24.2%) paciente con sospecha de Miocarditis, 10/33 (30.3%) paciente con MCD
Griffin et al ⁽¹²⁾	1995	ND	21	31	3.4	ND	3.4	ND	58 casos de muestras congeladas y fijas de autopsias para PCR
Bowles et al ⁽¹³⁾	2003	<1	14	23	<1	<1	3	ND	624 pacientes con miocarditis con PCR utilizando BEM
Kühl et al ⁽¹⁴⁾	2005	36.6	32.6	8.1	ND	ND	ND	10.5	12% infección dual en miocarditis aguda, 172 paciente con PVB y HHV
Caforio et al ⁽¹⁸⁾	2007	3.0	12.5	5.0	ND	4.0	2.5	ND	174 pacientes con miocarditis viral
Breinholt et al ⁽¹⁵⁾	2010	82.6	ND	1	ND	19.8	2.5	ND	PCR en BEM de muestras de 99 niños (3 sem a 18 años)
Baaloul et al ⁽¹⁶⁾	2014	ND	28	ND	ND	ND	ND	ND	Se evaluó genoma de CVB en paciente con enfermedad cardiaca inflamatoria. 1 caso CVB1 y 27 CVB3
Cooper and Knowlton ⁽¹⁷⁾	2015	11-56	15-30	2-23	ND	ND	ND	ND	Capítulo 67, Braunwald's Heart Disease, 10th Edition

AV indica Adenovirus; CMV, citomegalovirus; CV, coxsackievirus; MCD, miocardiopatía dilatada; EBV, virus del Ebola; BEM, Biopsia endomiocárdica; EV, enterovirus; HHV, Herpes virus humano; ND, no determinado; PCR, reacción en cadena en polimerasa; y PVB, parvovirus B. (Fuente: Circ Res. 2016;118:496-514. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.115.306573)

Entre 1980 y 1990, la miocarditis inducida por virus estuvo más asociada con infecciones por enterovirus y adenovirus (19). A medida que las tecnologías moleculares continuaron mejorando, la epidemiología de la miocarditis inducida por virus en ciertas ubicaciones geográficas se desplazó predominantemente hacia las infecciones por PVB19 y HHV6 (20).

Es importante señalar en cuanto a la etiología viral que dependiendo de la población, geografía, idiosincrasia e incluso el periodo de estudio, se tiene distinta prevalencia. En el estudio realizado por Anderoletti et al (21), se observó genoma viral activo de Coxsackievirus tipo B así como proteínas de capsido viral, en particular VP1 en biopsias endomiocárdicas post-mortem de pacientes que presentaron muerte súbita en el contexto de un síndrome coronario agudo en Francia. Mientras tanto, Yilmaz et al (22) demostró muestras de biopsias endomiocárdicas consistentemente, y casi exclusivamente, positivas para PVB19 o HHV6 en Alemania. En población

mexicana dicha prevalencia no ha sido abordada de forma sistemática, por lo que no se podría aseverar una mayor asociación con Parvovirus B19.

Dado que las manifestaciones clínicas provocadas por un espectro tan amplio de agentes causantes, que van desde daño asintomático a daño cardíaco severo con conducción y otras anormalidades electrofisiológicas, muerte súbita o insuficiencia cardíaca, y un amplio rango de magnitud en las respuestas inmunes, los investigadores deben adoptar una respuesta internacional, con enfoque cooperativo y consistente para caracterizar la miocarditis.

Presentación y Diagnóstico

Las manifestaciones clínicas varían ampliamente desde pacientes asintomáticos hasta escenarios con falla cardíaca fulminante; pasando por arritmias, bloqueos cardíacos y síndromes que asemejan al infarto agudo del miocardio. Con frecuencia el cuadro clínico se inicia entre una y cuatro semanas posteriores a una infección, habitualmente respiratoria o gastrointestinal. Debido a que el mayor porcentaje de pacientes permanece asintomático y/o con síntomas leves, se favorece el subdiagnóstico. Clínicamente las manifestaciones más frecuentes son: disnea 72%, dolor torácico 32% y arritmias 18% (23).

Entre los auxiliares diagnósticos se incluye la realización de un electrocardiograma inicial que, a pesar de presentar una baja sensibilidad, se utiliza como estudio diagnóstico de tamizaje (24). Electrocardiogramas de pacientes con miocarditis confirmada exhiben cambios inespecíficos de la onda T así como cambios en el segmento ST incluyendo elevación del mismo. En el contexto de una miopericarditis la presencia de una relación del desnivel positivo del segmento ST con la amplitud de la onda T en V6 ($\text{Elevación vertical de ST/Amplitud de T en V6} > 0.25$) sugiere involucro pericárdico con una baja sensibilidad pero alta especificidad. Un estudio reciente por Ukena et al (25) realizado entre los años 1995-2009 en el cual se incluyeron 186 pacientes con sospecha de miocarditis aguda identificando que un complejo QRS > 120 mseg representaba un predictor independiente (HR: 3.42; IC 95% 1.78-6.01, $p < 0.001$) de muerte de causa cardiovascular así como trasplante cardíaco.

La ecocardiografía es una herramienta de medición útil en la evaluación diagnóstica de sospecha de miocarditis y para descartar otras causas de insuficiencia cardíaca. Además, los pacientes con miocarditis fulminante exhiben una recuperación sustancial en la función ventricular a los 6 meses en comparación con los pacientes con miocarditis aguda (26). Hsiao et al demostraron que el uso de strain longitudinal del ventrículo izquierdo así como el strain rate se encontraban disminuidos en paciente con miocarditis en comparación con población sana al tiempo que se identificó una elevación del hazard ratio del 1.26 (1.10-1.47) por cada disminución de 1% del strain longitudinal representando un predictor de deterioro y supervivencia libre de eventos (27).

La resonancia magnética cardíaca puede ser útil para confirmar el diagnóstico de miocarditis sobre todo en la fase aguda de la enfermedad si se cumplen al menos dos de los criterios de Lake Louise que incluyen: a) aumento de la señal focal o difusa en las secuencias potenciadas en T2; b) realce precoz con gadolinio, midiendo el realce absoluto total o el realce total relativo del miocardio, y c) al menos un foco de realce tardío focal no isquémico describiéndose una sensibilidad del 76% y una especificidad del 96%.

Con la finalidad de mejorar el reconocimiento de la miocarditis en la práctica clínica y seleccionar a los pacientes que requieren una evaluación diagnóstica adicional y tratamiento, el grupo de trabajo de enfermedades del miocardio y pericardio de la sociedad europea de cardiología propuso criterios diagnósticos para la sospecha clínica de miocarditis en los cuales el análisis con biopsia endomiocárdica es recomendado. Estos criterios están basados en consenso de expertos y requieren validación en registros multicéntricos y ensayos aleatorizados en pacientes que han sido sometidos a biopsia endomiocárdica (Tabla 3) (28).

Tabla 3. Criterios diagnósticos para sospecha clínica de miocarditis.

Criterios diagnósticos para sospecha clínica de miocarditis
-Presentaciones Clínicas^a
Dolor torácico agudo, pericardítico o pseudo isquémico
Nuevo inicio (días hasta 3 meses) o empeoramiento de: disnea en reposo o al esfuerzo, y/o fatiga con o sin signos de insuficiencia cardíaca izquierda y/o derecha
Sub agudo/crónico (>3 meses) o empeoramiento de: disnea en reposo o al esfuerzo y/o fatiga con o sin signos de insuficiencia cardíaca izquierda y/o derecha
Palpitación y/o arritmia inexplicada y/o síncope y/o muerte súbita cardíaca abortada
Choque cardiogénico inexplicado
-Criterios diagnósticos
1. Características en ECG/Holter/Prueba de estrés
Anormalidades nuevas en ECG/Holter/Prueba de estrés consistentes en cualquiera de los siguientes: Bloqueo AV de I-III grado o bloqueo de rama, cambios de la onda T/segmento ST, paro sinusal, taquicardia ventricular o fibrilación y asistolia, fibrilación auricular, disminución de la altura de la onda R, retardo de la conducción intraventricular (complejos QRS ancho), onda Q anormales, bajo voltaje, latidos prematuros frecuentes, taquicardia supraventricular
2. Marcadores de daño miocárdico
Elevación de Troponina T/Troponina I
3. Anormalidades estructurales y funcionales en imagen cardíaca (ECOTT, AngioTC, RMI)

Nuevo, inexplicable de otra manera, anormalidad funcional o estructural del VI y/o VD: alteraciones de la movilidad parietal regional o función sistólica o anormalidad en la función diastólica con o sin dilatación ventricular con o sin incremento en el espesor de la pared con o sin derrame pericárdico con o sin trombo endocavitario

4. Caracterización del tejido por RMI

Edema y/o realce tardío con Gadolinio de patrón miocárdico clásico

Sospecha clínica de miocarditis si ≥ 1 criterio de presentación clínica y ≥ 1 criterio diagnóstico de diferentes categorías en ausencia de: (1) Enfermedad arterial coronaria detectada por angiografía; (2) Enfermedad cardiovascular pre-existente conocida o causas extra-cardíacas que podrían explicar el síndrome. La sospecha es mayor con cumplimiento de un mayor número de criterios. *Si el paciente está asintomático ≥ 2 criterios diagnósticos deben ser cumplidos.

Fuente: Caforio ALP, Pankewit S, Arbustini E, et al. Current state of knowledge on aetiology, diagnosis, management, and therapy of myocarditis: a position statement of the European Society of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. Euro Heart J 2013;34:2636-2648.

El estándar de oro para el diagnóstico de miocarditis sigue siendo la biopsia endomiocárdica; sin embargo, las pruebas moleculares e histológicas con muestras de tejido revelan una gran variabilidad, en parte debido a una variedad de factores que incluyen la variabilidad interobservador, la calidad del tejido, la etapa de presentación, las causas y la gravedad de la enfermedad. Debido a que las zonas de miocarditis pueden ser heterogéneas en la pared miocárdica, se deben tomar varias biopsias (se recomiendan 5-10 muestras como mínimo cada una de 1-2 mm³ de tamaño) para poder tener una sensibilidad del 80% (28). El riesgo de perforación miocárdica, al igual que el de mortalidad por este método diagnóstico es <1% (29).

La contribución de la biopsia endomiocárdica es potenciada con el análisis molecular con extracción de ADN/ARN y por la amplificación del genoma viral con PCR-TR. Con la finalidad de excluir infección sistémica se deben tomar muestras de sangre periférica en paralelo con la biopsia endomiocárdica, además, la cuantificación de la carga viral y la determinación de la replicación viral puede agregar valor diagnóstico. En la tabla 4 se muestran las indicaciones de biopsia endomiocárdica (30).

Tabla 4. Indicaciones de Biopsia Endomiocárdica

INDICACIONES DE BIOPSIA ENDOMIOCÁRDICA	
Escenario Clínico	Clase de recomendación/nivel de evidencia
Insuficiencia cardíaca de nueva aparición inexplicada de menos de 2 semanas de evolución asociado a deterioro hemodinámico	I/B
Insuficiencia cardíaca de nueva aparición inexplicada de 2 semanas a 3 meses de evolución asociado a dilatación del VI y aparición de nuevas arritmias ventriculares o alteraciones de la conducción	I/B
Pacientes con una presentación clínica tipo «seudoinfarto» tras haber descartado enfermedad coronaria	I/B
Insuficiencia cardíaca asociada con miocardiopatía dilatada de cualquier duración asociada con reacción alérgica y/o eosinofilia	IIa/C
Insuficiencia cardíaca de >3 meses de duración asociada con dilatación ventricular izquierda y nuevas arritmias ventriculares, bloqueo AV de segundo o tercer grado o falla al tratamiento usual dentro de 1 a 2 semanas	IIa/C
Insuficiencia cardíaca asociada con sospecha de cardiomiopatía por antraciclina	IIa/C
Sospecha de tumores cardíacos	IIa/C
Miocardiopatía inexplicable en niños	IIa/C
Insuficiencia cardíaca asociada con cardiomiopatía restrictiva inexplicable	IIa/C
Arritmias ventriculares inexplicables	IIb/C
Insuficiencia cardíaca de >3 meses de duración asociada con dilatación ventricular izquierda sin nuevas arritmias ventriculares o bloqueo AV de segundo a tercer grado que responde al tratamiento usual dentro de 1-2 semanas	IIb/C

Fuente: Cooper L, Baughman K, Feldman A, et al. The role of endomyocardial biopsy in the management of cardiovascular disease. A Scientific Statement from the American Heart Association, the American College of Cardiology, and the European Society of Cardiology Endorsed by the Heart Failure Society of America and the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology. *European Heart Journal*. 2007;28:3076–3093.

Pronóstico y Tratamiento

El resultado y el pronóstico de la miocarditis dependen de la etiología, la presentación clínica y el estadio de la enfermedad (31). La miocarditis aguda se resuelve en aproximadamente el 50% de los casos en las primeras 2 a 4 semanas, pero alrededor del 25% desarrollará disfunción cardíaca persistente y 12-25% puede presentar deterioro agudo o progresan a miocardiopatía dilatada (MCD) en etapa terminal con la necesidad de un trasplante cardíaco.

La presentación de la disfunción biventricular se ha informado como el principal predictor de muerte o trasplante (32). Se dice que la miocarditis fulminante difiere de la miocarditis linfocítica (sub) aguda en su modo de inicio, grado de compromiso hemodinámico y mejor resultado, pero los datos son relativamente escasos en pacientes adultos (33). La miocarditis proliferativa de etiología desconocida es más frecuente en niños y en los neonatos con un pronóstico sombrío (34). La mayoría de los estudios sugieren que las tasas de supervivencia en la miocarditis de células gigantes son notablemente peores.

Las técnicas de detección molecular para el genoma viral en muestras de biopsias endomiocárdicas (BEM) han proporcionado información pronóstica contradictoria (35-37). La persistencia viral en el miocardio se ha asociado con disfunción ventricular y el aclaramiento del genoma viral con mejoría de la función ventricular y un mejor pronóstico a 10 años (36). En contraste, en un informe reciente, la evidencia inmunohistológica de inflamación pero no la presencia del genoma viral sólo, fue un predictor independiente de supervivencia (38). Esta discrepancia puede relacionarse con la variabilidad en la epidemiología viral de diferentes poblaciones y con un bajo número de eventos.

Tratamiento Médico Convencional

Los principios básicos del tratamiento en la miocarditis son la atención óptima de la arritmia, la insuficiencia cardíaca y, cuando la evidencia lo respalde, la terapia dirigida a la etiología.

Los pacientes con insuficiencia cardíaca hemodinámicamente inestable deben tratarse de inmediato de acuerdo con las directrices actuales de ESC para insuficiencia cardíaca en unidades de cuidados intensivos con instalaciones de apoyo respiratorio y mecánico-pulmonar (39). En casos agudos / fulminantes con shock cardiogénico y disfunción ventricular severa, es posible que se necesiten dispositivos de soporte ventricular u oxigenación por membrana extracorpórea (ECMO) para proporcionar un puente para el trasplante o la recuperación.

Los pacientes con insuficiencia cardíaca hemodinámicamente estable deben recibir tratamiento con diuréticos, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina, bloqueadores del receptor de angiotensina y beta-bloqueadores. En los pacientes hospitalizados con síntomas persistentes de insuficiencia cardíaca a pesar del manejo óptimo, se debe considerar el tratamiento adicional con antagonistas de la aldosterona (39). La piedra angular del tratamiento de la pericarditis aguda sigue siendo el ácido acetilsalicílico, pero se ha asociado con un aumento de la mortalidad en los modelos experimentales de miocarditis (40-42).

Terapia Inmunomoduladora

Todavía no existe una terapia antiviral aprobada para el tratamiento de infecciones enterológicas. El tratamiento con aciclovir, ganciclovir y valaciclovir puede considerarse en pacientes con infección por el virus del herpes, aunque su eficacia no está probada en la miocarditis. Los datos preliminares sobre el tratamiento con interferón beta sugieren que elimina los genomas enterovirales y adenovirales en pacientes con disfunción ventricular izquierda (43), asociado a una mejoría en la clase funcional NYHA (44), y específicamente en la infección por enterovirus, con un mejor pronóstico a 10 años. La inmunoglobulina intravenosa en dosis altas (IGIV) modula la respuesta inmunitaria e inflamatoria mediante una variedad de mecanismos y se usa en una serie de enfermedades autoinmunes sistémicas. Su uso se ha asociado con una mejor fracción de eyección del ventrículo izquierdo en la insuficiencia cardíaca sintomática crónica de varias causas (45), pero la IGIV no fue efectiva en el ensayo controlado IMAC de CMD de inicio reciente en el que solo el 15% de los pacientes tenían miocarditis probada por biopsia de causa no especificada (46).

Terapia Inmunosupresora

La mayoría de los datos sobre seguridad y eficacia de los regímenes inmunosupresores en la miocarditis se han obtenido utilizando esteroides solos, azatioprina y esteroides, o ciclosporina A, azatioprina y esteroides. Los datos de los pocos ensayos clínicos aleatorizados de inmunosupresión en miocarditis y CMD se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5. Ensayos controlados de inmunosupresión en miocarditis y miocardiopatía dilatada

Estudio	Año	Tipo	Pacientes (n)	Diagnóstico	Endpoint Primario	Resultados	Autor
Prednisona en CMD	1989	ECA	102	CMD Reactiva = 60 CMD No Reactiva = 42	Aumento de FEVI a 3 meses o disminución de DDVI	Favorable	Parrillo
MTT	1995	ECA	111	Miocarditis probada por Biopsia	FEVI a 6 meses	Neutral	Mason
Tratamiento de Miocarditis de células gigantes	2008	Prospectivo	11	Miocarditis de Células Gigantes	Supervivencia al año	Favorable	Cooper

TIMIC	2003	Prospectivo	41	Miocarditis Activa	FEVI al año	Favorable en virus negativo – anticuerpos positivos	Frustraci
	2001	ECA	84	CMD Inflamatoria	FEVI a 3 meses, mantenimiento a 2 años	Favorable	Wojnicz
	2009	ECA	85	CMD Inflamatoria virus negativo	FEVI a 6 meses	Favorable	Frustraci

Fuente: Caforio ALP, Pankewit S, Arbustini E, et al. Current state of knowledge on aetiology, diagnosis, management, and therapy of myocarditis: a position statement of the European Society of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. Euro Heart J 2013;34:2636-2648.

La terapia inmunosupresora debe comenzarse después de que se descarte proceso infeccioso activo en biopsia endomiocárdica mediante reacción en cadena de polimerasa (PCR). Basado en opinión de expertos se recomienda la terapia inmunosupresora en paciente con miocarditis auto-inmune demostrada, así como en miocarditis de células gigantes, sarcoidosis cardíaca y miocarditis asociada con enfermedad autoinmune extracardiaca conocida. La terapia con esteroides está indicada en la sarcoidosis cardíaca en presencia de disfunción ventricular y/o arritmia y en algunas formas de miocarditis eosinofílica negativa a infección con insuficiencia cardíaca y/o arritmia. La inmunosupresión puede considerarse, en una base individual, en la miocarditis linfocítica con infección negativa refractaria al tratamiento estándar en pacientes sin contraindicaciones para la inmunosupresión. El seguimiento de BEM puede ser necesario para guiar la intensidad y la duración de la inmunosupresión.

Receptor Adenovirus-Coxsackievirus (CAR)

El Receptor Adenovirus-Coxsackievirus (CAR) es una molécula multifuncional inicialmente descubierta por su participación como receptor viral en la patogenia de la miocarditis, función a la cual se atribuye su nombre; sin embargo con el devenir del tiempo se ha revelado que interactúa con otras proteínas implicadas en la señalización celular, adhesión e incluso en la transducción de señales. El gen de CAR se ha localizado en el cromosoma 21q11.2 (47) y se designa como CXADR. Siete exones han sido reportados para el gen en humanos (48).

La comprensión de la patogenia en la miocarditis viral se ha dado a partir de modelos experimentales de infección aguda por virus Coxsackie B. El cambio inicial es el daño de los miocitos en ausencia de una respuesta inmune celular (49). La entrada viral al miocito está mediada por receptores de superficie celular. CAR es un receptor común para el tipo de virus

Coxsackie B y para los subgrupos de adenovirus A, C, D, E y F; con raras excepciones, se requiere la expresión de CAR para la entrada del virus en las células. Co-receptores, incluyendo el Factor acelerador de degradación (DAF, CD55) para algunas cepas de virus Coxsackie B y las integrinas ayudan a determinar la eficacia de la infección (50).

CAR es una proteína transmembrana de la superfamilia de Ig que se localiza en los complejos de unión que se producen entre las células endoteliales y células epiteliales (principalmente en las uniones intercelulares de las células epiteliales). El mRNA completo de CAR codifica una estructura de 365 aminoácidos con una secuencia guía corta (19 residuos), un dominio extracelular de 216 residuos, un dominio transmembrana de 23 aminoácidos, y dependiendo del empalme alternativo, una cola citoplasmática de 94 a 107 residuos. Por lo menos dos proteínas CAR carboxilo-terminal diferentes han sido identificadas y se refieren cómo hCAR1 y hCAR2 para los humanos. La proteína madura tiene un peso molecular de aproximadamente 38 kDa (hCAR1). Es una proteína con dos dominios extracelulares similares a Ig localizados en la mitad N-terminal de la proteína, una única hélice que abarca la membrana y una cola citoplasmática C- terminal (Figura 1) (51,52).

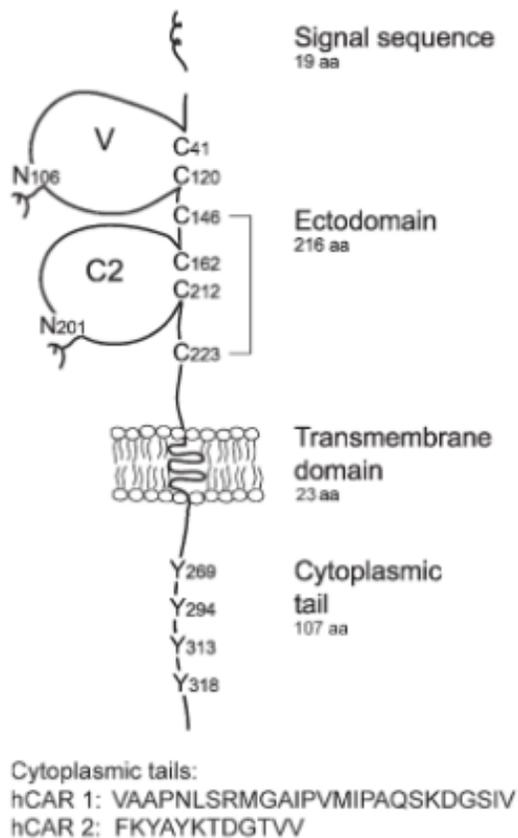


Figura 1. Estructura esquemática de la proteína hCAR1. El dominio extracelular consiste en dos bucles Ig (D1 y D2), uno de tipo variable (V, formado entre Cys41 y Cys120) y uno de tipo constante (C2, abarcando de Cys162 a Cys212). El dominio D2 contiene un puente disulfuro extra formado entre Cys146 y Cys223 no típico de un dominio Ig similar a C2. La

numeración se refiere a todo el marco de lectura abierto. Empalmes alternativos resultan en diferentes secuencias C-terminal para hCAR1 and hCAR2. [Tomada de Freimuth et al. 2008].⁵²

CAR, como una proteína de unión estrecha de los discos intercalados, ha sido recientemente implicada en la remodelación cardíaca y la conducción eléctrica entre aurículas y ventrículos (53,54). Esta molécula es expresada a niveles altos en el cerebro y el corazón con un pico perinatal, de modo que después del nacimiento los niveles de CAR disminuyen con la edad. La deficiencia de CAR resulta en letalidad embrionaria a la mitad del desarrollo, con edema pericárdico que se relaciona con la organización alterada de miofibrillas e incremento en la proliferación de cardiomiocitos (55-57). En los humanos esta proteína es expresada en el corazón, así como en el músculo, páncreas, testículos, próstata y en muchos otros tejidos (52).

CAR interactúa con proteínas implicadas en la formación de comunicaciones celulares, endocitosis y transducción de señales (Figura 2) (58). Forma homodímeros y heterodímeros a través de los dominios Ig extracelulares y, recientemente, se demostró que forma un complejo proteico con β -catenina, ZO-1 (zona ocludens 1) y la proteína de unión gap Cx45 (58).

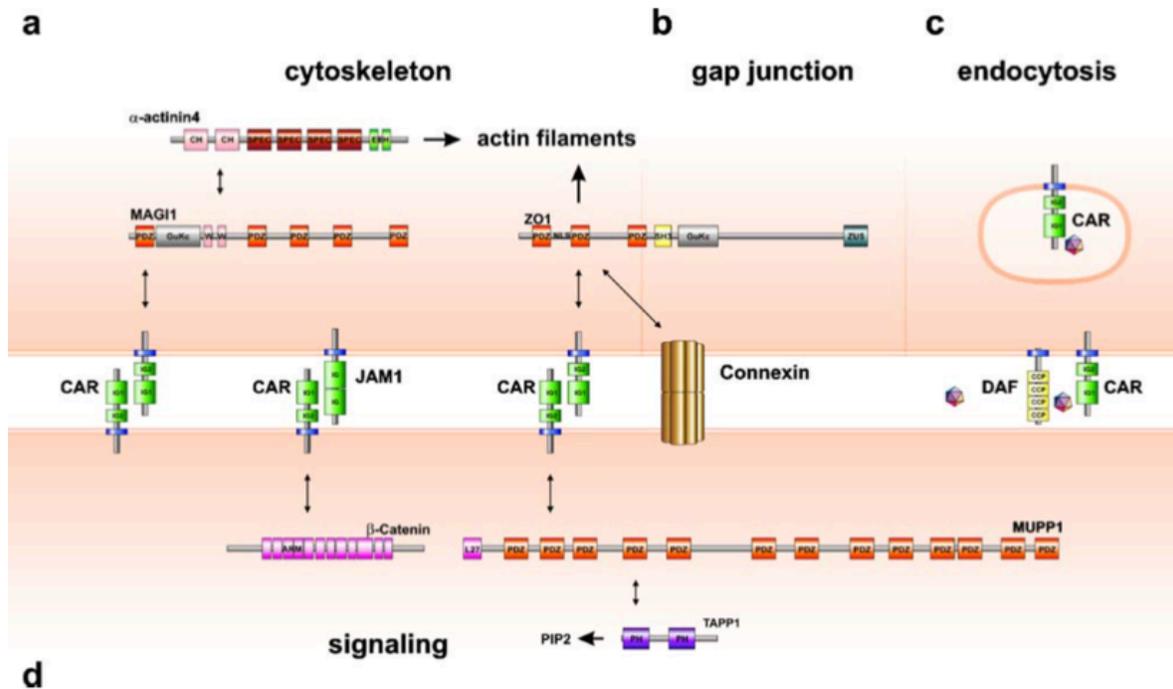


Figura 2. Funciones atribuidas a CAR. CAR puede heterodimerizarse u homodimerizarse a través de los dominios Ig extracelulares. La cola citoplásmica interactúa con diversas proteínas del dominio PDZ, entre ellos ZO-1 y guanilato quinasa asociada a la membrana, WW, y MAGI1 que se une al conjunto de filamentos de actina. La interacción con ZO-1 implica el segundo dominio PDZ. b. Este dominio también media la interacción entre la cola citoplásmica de CAR y conexasinas para modular la actividad de las uniones gap. c. CAR puede mediar la unión y captación de Adenovirus y Coxsackievirus. Este proceso requiere la interacción con la maquinaria endocítica (no mostrado) y correceptores. Para Coxsackievirus, este correceptor es el DAF / CD55. d. Enlaces para transducción de señales incluyen la interacción de CAR con β -catenina y

MUPP1. Este último se relaciona a la señalización de PIP2 a través de TAPP-1. Las interacciones se muestran con flechas de doble punta. [Tomada de Fischer, et al. 2009].⁵⁸

Desde que se identificó CAR, múltiples han sido los estudios realizados encaminados a conocer sus características e implicaciones fisiológicas, la mayoría de ellos llevados a cabo en animales. Actualmente hay pocos estudios en humanos donde se evalúe su expresión en enfermedades cardíacas, probablemente atribuido a las implicaciones éticas del mismo. La expresión de CAR es muy baja en el corazón normal, sin embargo se ha observado sobre- expresión en corazón de pacientes con miocardiopatía dilatada, así como en cardiopatía isquémica (59). No hay ensayos clínicos acerca de la expresión de CAR en pacientes con miocarditis, solo algunos casos forman parte de la muestra final de protocolos en miocardiopatía dilatada (MCD). En los siguientes párrafos resumimos cuatro protocolos destinados a conocer la expresión de CAR.

Qiang Liu, et al realizaron un estudio del año 2009 al 2011 cuyo objetivo fue investigar la correlación entre infección viral persistente y función cardíaca en pacientes con MCD (60). Reclutaron un total de 80 pacientes (50 con MCD y 30 controles), determinaron niveles de expresión de CAR y RNA de Coxsackievirus en la superficie de leucocitos usando citometría de flujo y RT-PCR, respectivamente. El 44% de los pacientes con MCD fueron positivos para RNA de Coxsackievirus y 20% de los controles; los niveles de expresión de CAR en pacientes con RNA viral positivo fueron mayores con respecto a los niveles de expresión en pacientes con RNA negativo. Sin embargo este estudio tiene como desventajas la medición de la expresión de CAR en la superficie celular de los componentes de la fórmula blanca y no en tejido miocárdico, además de la utilización de un método cualitativo para su análisis.

Eniko Tatrai, et al reunieron 45 casos (16 con MCD, 2 con miocardiopatía inflamatoria, 17 con miocardiopatía isquémica y 10 controles) en un periodo de 2005 a 2008, valoraron la expresión de mRNA CAR y buscaron posibles mutaciones del gen CAR (48). El tejido miocárdico fue obtenido de corazones explantados de pacientes sometidos a trasplante cardíaco mientras que las muestras controles provenían de individuos fallecidos súbitamente por accidente o suicidio, dichos especímenes fueron almacenados a -80°C para su procesamiento.

Los pacientes con MCD y miocardiopatía isquémica presentaron sobre-expresión de CAR con respecto a los controles; así mismo los pacientes con miocardiopatía inflamatoria mostraron mayor nivel de mRNA que controles pero menor que los otros dos grupos; no encontraron diferencia en la expresión de CAR relacionado a la edad o género, ni mutaciones de CAR entre sus grupos de estudio. Este trabajo tiene como desventaja que las muestras de miocardio fueron obtenidas de pacientes sometidos a trasplante cardíaco por lo que traduce un estadio tardío de la enfermedad basal, con solo 2 muestras de pacientes con inflamación activa; a su favor el hecho de analizar la expresión de CAR por medio de PCR en tiempo real.

Kaur Tripta, et al determinaron la expresión de CAR en tejido miocárdico de pacientes con MCD y su localización celular, para ello reunieron 26 muestras histológicas de miocardiopatía dilatada y 20 controles. Dicho tejido se encontraba incluido en parafina, conservado durante un período de 10 años (61). Para determinar la localización celular de CAR utilizaron anticuerpos policlonales de conejo específicos para CAR utilizando como controles tejido de adenocarcinoma prostático. Para cuantificar el nivel de expresión de CAR se realizó RT-PCR. Concluyeron que el nivel de expresión de mRNA CAR fue mayor en pacientes con MCD comparado con el grupo control, además sugieren la realización de estudios para correlacionar el grado de positividad de CAR con severidad de la enfermedad. En general tiene como desventaja la medición de CAR a través de un método cualitativo, aunado a solo contar con 3 casos de miocarditis activa.

Finalmente, Volker Ruppert, et al analizaron la expresión de CAR en biopsias de pacientes con MCD (42 muestras) respecto a controles (24 muestras) utilizando qRT-PCR (62). Las biopsias fueron tomadas a través de cateterismo cardiaco con un biotomo flexible, fueron congeladas y almacenadas en nitrógeno líquido inmediatamente. Los datos obtenidos confirmaron una sobre-expresión de CAR miocárdico en pacientes con MCD pero generalmente ausente en sujetos controles con función ventricular izquierda conservada; no encontraron asociación entre títulos de anticuerpos séricos contra virus y la expresión de CAR. Dentro de los puntos a favor de dicho protocolo es la utilización de un método cuantitativo para medir la expresión de CAR, desafortunadamente no se realizó una extrapolación de dichos resultados a la expresión clínica de la enfermedad.

Un estudio reciente de casos y controles de García-Becerril & Cruz-Montalvo valoró la asociación entre los niveles de expresión relativa de CAR y la respuesta a la terapia inmunosupresora o convencional así como con el tipo de miocarditis histológica (63). Los niveles de transcripción de CAR fueron significativamente más bajos ($P = 0.012$) en pacientes con miocarditis en comparación con los controles, y se observó una disminución significativa ($P = 0.023$) en los niveles de expresión relativa de CAR entre pacientes con miocarditis límite en comparación con el grupo sin miocarditis. Los pacientes que respondieron a la terapia exhibieron niveles más altos de CAR ($P = 0.036$) en comparación con los pacientes que no respondieron al tratamiento, según la evaluación basada en criterios clínicos y ecocardiográficos. La miocarditis en los no respondedores se asoció con menos manifestaciones clínicas y niveles más bajos de ARNm de CAR. Solo se encontró una diferencia significativa con respecto al uso de esteroides orales en pacientes con miocarditis activa que respondieron al tratamiento ($P = 0.02$), sin diferencias en la miocarditis limítrofe. En conclusión, el nivel transcripcional del CAR es bajo en el tejido endomiocárdico de los pacientes con miocarditis, y es más bajo en la miocarditis limítrofe y en los pacientes que no responden. Los hallazgos de dicho estudio permitieron proponer una teoría del mecanismo de respuesta o no respuesta a tratamiento en miocarditis que se ejemplifica en la figura 3.

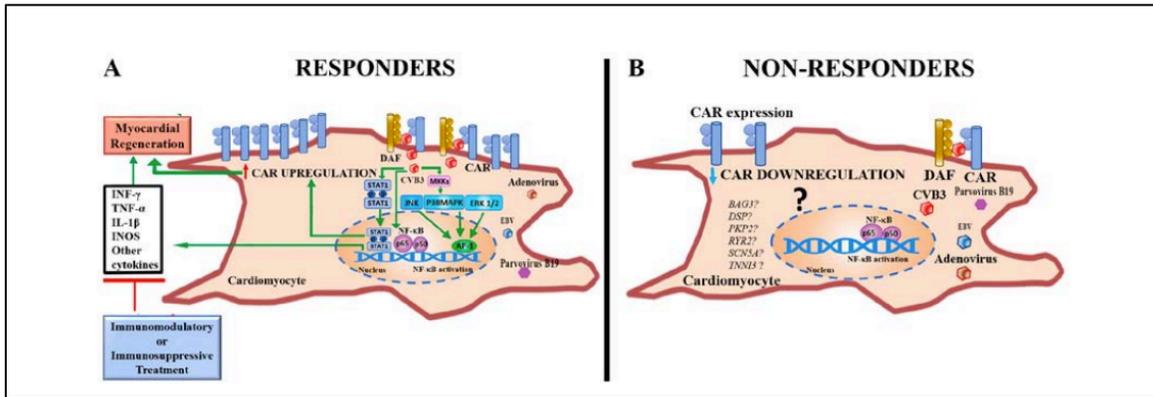


Figura 3. Mecanismos fisiopatológicos propuestos que podrían explicar la presencia o ausencia de respuesta al tratamiento en la miocarditis. (A) Representa el escenario propuesto en pacientes con respuesta al tratamiento; en estos pacientes hay una regulación al alza de los niveles de ARNm del CAR, que se ha relacionado con la vía de señalización STAT1, así como una mayor respuesta inflamatoria mediada por JNK y p38MAPK con una mayor síntesis de interferón gamma (INF- γ), necrosis tumoral factor α (TnF- α), interleucina 1 β (i l-1 β) y óxido nítrico sintasa (inoS); así, el CAR induce señales que activan los efectores celulares y las respuestas de citoquinas características de la inmunidad innata o adquirida independientemente del tipo de infección viral. en este sentido, el uso de inmunosupresores o inmunomoduladores puede ser importante porque bloquea el efecto inflamatorio de la sobreexpresión de los niveles de ARNm de CAR sin afectar su función de molécula de adhesión celular, que se ha asociado con la fase de curación o la regeneración del daño miocardio (B) representa el escenario en pacientes sin respuesta al tratamiento; en estos pacientes hay una transcripción más baja de CAR; sin embargo, el resto de la ruta fisiopatológica aún se desconoce. Fuente: Molecular Medicine rePorTS 20: 2189-2198, 2019

III. Justificación:

La miocarditis es una patología con gran espectro clínico, que va desde cursar asintomática hasta cursar con falla cardíaca fulminante. Su incidencia estimada en México es de 1/1,000 ingresos/año. Afecta principalmente a pacientes jóvenes, económicamente activos, por lo que su progresión a miocardiopatía dilatada y/o la muerte representa un gran impacto.

En México, hay un solo estudio que se encaminó a determinar características de biología molecular que pudieran tener implicación en el curso de la enfermedad. El receptor de coxsackievirus y adenovirus (CAR) es una molécula multifuncional que interactúa con proteínas involucradas en la comunicación celular, la adhesión, la unión al citoesqueleto, la regulación y la transducción de señales, y recientemente se ha implicado en la remodelación cardíaca y la conducción eléctrica auriculoventricular. La transcripción del CAR se sobreexpresa en pacientes con cardiomiopatía dilatada (CMD) y cardiopatía isquémica. Con respecto al rendimiento del CAR en presencia de miocarditis, la mayoría de la información se deriva de estudios en animales. Existe una cantidad limitada de estudios sobre la expresión del CAR en pacientes con miocarditis activa, y solo unos pocos casos se han incluido en la muestra final de protocolos con CMD. García-Becerril & Cruz-Montalvo valoraron la asociación entre los niveles de expresión relativa del CAR y la respuesta a la terapia inmunosupresora o convencional así como con el tipo de miocarditis histológica identificando que los pacientes que respondieron a la terapia exhibieron niveles más altos de CAR en comparación con los pacientes que no respondieron al tratamiento. El presente estudio tiene como objetivo identificar si existe una asociación entre los niveles de expresión relativa del receptor coxsackievirus-adenovirus (CAR) y eventos cardiovasculares adversos mayores en pacientes con miocarditis que permitirían la identificación temprana de paciente que pudieran beneficiarse del tratamiento y la determinación oportuna de pronóstico.

IV. Planteamiento del Problema:

La miocarditis es una patología con gran espectro clínico, que va desde cursar asintomática hasta cursar con falla cardíaca fulminante. Afecta principalmente a pacientes jóvenes, económicamente activos, por lo que su progresión a miocardiopatía dilatada y/o la muerte representa un gran impacto.

El Receptor Adenovirus-Coxsackievirus (CAR), una proteína transmembrana de la superfamilia de Ig, ha sido implicada en la remodelación cardíaca y la conducción eléctrica aurículo-ventricular. La expresión de CAR es muy baja en el corazón normal, sin embargo se ha observado una sobre-expresión en miocardiopatía dilatada, así como en cardiopatía isquémica; aunque se desconoce con exactitud su comportamiento en miocarditis activa.

Los estudios realizados en relación a la expresión de CAR en humanos son limitados. En México hay un solo estudio que se encaminó a determinar características de biología molecular que pudieran tener implicación en el curso de la enfermedad.

Con base a lo anterior, el presente estudio se dirige a contestar las siguientes preguntas de investigación:

- ¿Existe asociación entre los niveles de expresión relativa de CAR en muestras de tejido endomiocárdico procedentes de pacientes con diagnóstico de miocarditis de acuerdo a los criterios de Dallas y el desarrollo de eventos cardiovasculares adversos mayores?
- ¿Cuál es el punto de corte de la expresión relativa de CAR que mejor predice eventos cardiovasculares mayores?
- ¿Cuál es la magnitud de la asociación de la expresión relativa de CAR (de acuerdo al punto de corte estimado en la curva ROC por índice de Youden) con la ocurrencia de eventos cardiovasculares mayores?

V. Objetivos:

Objetivo General:

Determinar si existe una asociación entre en los niveles de expresión relativa del Receptor Adenovirus-Coxsackievirus (CAR) en muestras de tejido endomiocárdico de pacientes con diferentes espectros de la miocarditis y el desarrollo de eventos cardiovasculares adversos mayores.

Objetivos Específicos:

- Identificar si existe una asociación entre los niveles de expresión relativa de CAR y el desarrollo de eventos cardiovasculares adversos mayores en pacientes con diagnóstico de miocarditis activa.
- Identificar si existe una asociación entre los niveles de expresión relativa de CAR y el desarrollo de eventos cardiovasculares adversos mayores en pacientes con diagnóstico de miocarditis limítrofe.
- Determinar si los niveles de expresión relativos de CAR pueden identificar a los pacientes con un peor resultado y si se trata de un factor pronóstico independiente de mortalidad.
- Valorar sí existe una asociación entre los niveles de expresión relativa de CAR y el desarrollo datos de severidad durante el horizonte clínico de la enfermedad.
- Determinar los valores predictivos de expresión relativa de CAR posterior al calculo del área bajo la curva ROC para cuantificar la precisión predictiva.

VI. Hipótesis:

Hipótesis a pregunta 1:

La expresión relativa de CAR en pacientes con Miocarditis se asocian con una mayor frecuencia de eventos cardiovasculares mayores.

Hipótesis nula a pregunta 1:

No existe asociación entre la expresión relativa de CAR en paciente con Miocarditis y la frecuencia de eventos cardiovasculares mayores.

Hipótesis a pregunta 2:

Mayores niveles de expresión relativa elevados de CAR se asocian con una mayor frecuencia de eventos cardiovasculares mayores así como datos de severidad de la enfermedad.

Hipótesis nula a pregunta 2:

No existe asociación entre una mayor expresión relativa de CAR en paciente con Miocarditis y la frecuencia de eventos cardiovasculares mayores así como datos de severidad de la enfermedad.

VII. Material y Métodos:

1. Diseño de la investigación.

1.1. Tipo de Estudio

- a) Por el control de la maniobra: Observacional
- b) Por la captación de la información: Ambilectivo
- c) Por la medición del fenómeno en el tiempo: Prospectivo
- d) Por la presencia de 2 grupos: Comparativo
- e) Por la dirección del análisis: Causa-efecto

1.2. Diseño

Estudio de Cohorte (Prueba pronóstica)

2. Lugar donde se realizará el estudio.

El estudio se llevó a cabo en dos sedes: en la UMAE Hospital de Cardiología del Instituto Mexicano del Seguro Social, ubicada en el Centro Médico Nacional Siglo XXI (CMN-SXXI) donde se realizó el abordaje diagnóstico-terapéutico de los pacientes con miocarditis con muestras de tejido endomiocárdico disponibles en el Departamento de Patología. Para su procesamiento se recibió el apoyo de la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias del Hospital de Pediatría del Instituto Mexicano del Seguro Social, CMN-SXXI.

3. Duración del Estudio.

Este protocolo se realizó en dos años. Durante los dos primeros semestres se realizó la estandarización de los métodos y la recolección de los datos, en el tercer semestre se redactó los resultados obtenidos en un manuscrito y en el cuarto semestre se presentó como vínculo de tesis de especialidad así como con fines de publicar artículo en una revista internacional con arbitraje e indexada, de acuerdo al cronograma explicado más adelante.

4. Fuentes de Información.

Los datos clínicos de cada paciente se obtuvieron de su expediente y/o de un cuestionario breve que se realizó a cada paciente (Anexo 1).

5. Tipo de Muestra y Tamaño de Muestra.

El tipo de muestreo es consecutivo por conveniencia conforme se vaya capturando a los pacientes y sus muestras. En cuanto al tamaño de muestra, dado el carácter exploratorio del estudio, no se cuenta con información previa en la literatura para efectuar una estimación precisa de las diferencias que se esperaría encontrar para identificar la expresión relativa de CAR en las diferentes poblaciones con miocarditis, también debemos recordar la baja frecuencia de esta enfermedad ya que se encuentra subdiagnosticada. Por tales motivos este es un estudio piloto en una muestra finita de biopsias de sujetos cautivos en la Clínica de Insuficiencia Cardíaca de nuestro hospital; se evaluaron al menos 23 muestras de pacientes con miocarditis activa y 14 con miocarditis limítrofe, para todos los grupos el tamaño de muestra se re-estimara de acuerdo a los resultados encontrados.

6. Diseño de la muestra (Poblaciones de estudio, muestras, criterios de selección)

6.1. Población de Estudio: La población en estudio se constituye por pacientes de cualquier género, con edad mayor de 18 años, los cuales son derechohabientes del Instituto Mexicano del Seguro Social y fueron valorados y diagnosticados con Miocarditis en el Hospital de Cardiología del Centro Médico Nacional Siglo XXI de acuerdo a los hallazgos histológicos de biopsias endomiocárdicas. Todos los pacientes cuentan con historia clínica, resultados de laboratorio y gabinete. El Departamento de Patología del Hospital de Cardiología del CMN Siglo XXI cuenta con un registro físico y electrónico del análisis de biopsias endomiocárdicas realizadas, así como el banco de muestras incluidas en parafina de dichas biopsias. En estas biopsias endomiocárdicas el diagnóstico ya fue realizado de forma indistinta por patólogos expertos del servicio de patología de la UMAE Hospital de Cardiología. En este protocolo se estudiaron biopsias endomiocárdicas que fueron indicadas por especialista ajeno al equipo de investigadores y con fundamento clínico. Las biopsias endomiocárdicas son asignadas a un médico anatomopatólogo experto adscrito al Servicio de Patología de la UMAE Hospital de Cardiología de CMN Siglo XXI, de acuerdo al rol interno de trabajo, quien emite un diagnóstico. A su vez contaremos con el apoyo del Dr. Flores García como segundo revisor a fin de evitar sesgos potenciales atribuidos a diferencias interobservador. Aunado a esto el servicio de Patología del Hospital de Cardiología cuenta con directrices estandarizadas en las que se prioriza que el reporte de cada biopsia sea determinado en consenso por al menos dos médicos patólogos, sobre todo cuando exista duda diagnóstica, emitiéndose así un diagnóstico de conformidad, siendo esta dinámica una forma de trabajo al interior del servicio. Cabe mencionar que dichas biopsias se realizaron en el contexto clínico para lograr un

diagnóstico definitivo, por lo que previamente se firmó un consentimiento informado por dichos pacientes, y en el contexto de nuestra investigación se firmó un consentimiento para su utilización.

Posteriormente se revisaron los expedientes clínicos correspondientes a los pacientes de las muestras seleccionadas de acuerdo con los criterios de inclusión, con el objetivo de obtener datos en relación con el comportamiento clínico de la enfermedad.

6.2. Muestra: Las muestras de biopsia endomiocárdica de los pacientes se encuentran disponibles en el Departamento de Patología del Hospital de Cardiología del Centro Médico Nacional Siglo XXI, incluidas en parafina para su preservación. De todos los pacientes se tomaron biopsias que se utilizaron para el diagnóstico clínico de la entidad. La presencia de miocarditis fue diagnosticada por criterios morfológicos histológicos a través de microscopía óptica y electrónica de acuerdo a los Criterios de Dallas, así como determinación de marcadores inmunohistoquímicos.

6.3. Grupos de Estudio: Para su análisis las muestras se clasificaran en dos grupos:

- A) Pacientes con miocarditis activa o limítrofe (de acuerdo a criterios de Dallas) con expresión relativa de CAR
- B) Pacientes con miocarditis activa o limítrofe (de acuerdo a criterios de Dallas) sin expresión relativa de CAR

Dicha clasificación se lleva a cabo por el grupo de patólogos del hospital tomando en cuenta los criterios establecidos en 1995 por la Organización Mundial de la Salud (OMS)/ sociedad y Federación Internacional de Cardiología (SFIC).

6.4. Criterios de Selección:

6.4.1. Criterios de Inclusión para la Muestra:

- 1) Hombres y mujeres de edad mayor o igual a 18 años con diagnóstico de miocarditis por criterios histológicos e inmunohistoquímicos en muestras de biopsia endomiocárdica.
- 2) La toma de muestra se realizó durante el inicio del horizonte clínico de la enfermedad.
- 3) Derechohabiente al Instituto Mexicano del Seguro Social.
- 4) Pacientes con expediente clínico completo de acuerdo a los datos necesarios para el análisis de nuestro estudio.

6.4.2. Criterios de Inclusión para los pacientes con Miocarditis Activa

- 1) Iguales que los criterios de inclusión para la muestra en los incisos 1 a 4.
- 2) Haber sido clasificado con Miocarditis Activa.

6.4.3. Criterios de Inclusión para los pacientes con Miocarditis Limítrofe

- 1) Iguales que los criterios de inclusión para la muestra en los incisos 1 a 4.
- 2) Haber sido clasificado con Miocarditis Limítrofe.

6.4.4. Criterios de Exclusión y Eliminación

- 1) Pacientes cuyo diagnóstico histopatológico fue incierto.
- 2) Pacientes con cardiopatía isquémica (sea por historia cardiovascular o angiografía coronaria que demuestre una estenosis igual o mayor del 50% de un vaso epicárdico).
- 3) Paciente portadores de infecciones virales sistémicas (Hepatitis B, Hepatitis C, Infección por VIH, etc).
- 4) Pacientes con enfermedades inmunológicas e inmunodeficiencias congénitas o adquiridas.
- 5) Pacientes con enfermedades oncológicas activas.
- 6) No haber obtenido en forma completa la información clínica y los resultados de laboratorio e histopatológicos necesarios para el análisis del estudio.

6.4.5. Criterios de Severidad de la Enfermedad

- 1) Fracción de eyección ventricular Izquierda <45%
- 2) Elevación de troponina T hs por encima de percentil 99
- 3) Clase funcional por NYHA avanzado (III-IV)
- 4) QRS >120 mseg
- 5) Presencia de síncope (al ingreso)
- 6) Disfunción ventricular derecha
- 7) Hipertensión arterial pulmonar (mPAP >25 mmHg)
- 8) Hipertensión venosa pulmonar (POAP >15 mmHg)
- 9) Hipotensión arterial (al ingreso)

7. Definición y Clasificación de las variables

7.1. Variables independientes

7.1.1. Expresión de CAR:

Definición Conceptual: Nivel de expresión del gen *CAR* en las muestras de tejido endomiocárdico de pacientes con miocarditis.

Definición operacional: La expresión relativa de *CAR* será calculada de la división de la expresión del gen *CAR* y el nivel de gen *B-Actina* determinado para cada muestra, ambos determinados por qRT-PCR.

Tipo de variable: Numérica cuantitativa continua.

7.2. Variables dependientes

7.2.1. Miocarditis:

Definición Conceptual: De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS) / Sociedad y Federación Internacional de Cardiología (SFIC) la definición de miocarditis incluye criterios histológicos (Dallas) así como criterios inmunológicos e inmunohistoquímicos.

La Sociedad Europea de Cardiología (ESC) definió criterios inmunohistoquímicos como un infiltrado inflamatorio anormal definido como ≥ 14 leucocitos/mm² incluyendo por lo menos 4 monocitos/mm² con la 2 presencia de linfocitos T CD3+ ≥ 7 células/mm.

Los criterios de Dallas clasifican la miocarditis en los siguientes espectros:

- Miocarditis activa: Definida como un infiltrado inflamatorio del miocardio con necrosis y/o degeneración de miocitos adyacentes no típicos de daño isquémico asociado a enfermedad arterial coronaria. Los infiltrados son usualmente mononucleares, pero pueden ser neutrófilos y, ocasionalmente, eosinófilos.
- Miocarditis limítrofe: Término utilizado cuando el infiltrado inflamatorio es escaso o el daño de los miocitos no es demostrado.

Definición operativa: Clasificación de las muestras de acuerdo a la conclusión obtenida por el patólogo certificado que analizó la muestra.

Tipo de variable: Cualitativa nominal.

7.2.2. Eventos Cardiovasculares Adversos Mayores:

7.2.2.1. Muerte por cualquier causa cardiovascular.

7.2.2.2. Descompensación de insuficiencia cardiaca que requiere ingreso hospitalario.

7.2.2.3. Arritmia ventricular sostenida documentada (>30 s)

7.2.2.4. Recurrencia de lesión miocárdica aguda basado en biomarcadores elevados (Troponina T hs \geq percentil 99 con variabilidad \geq 20%)

7.2.2.5. Trasplante Cardíaco.

Tipo de variable: Dicotómica nominal. Se tomara en cuenta la presencia de cualquiera de los eventos comentados con antelación y el tiempo desde el diagnóstico de miocarditis hasta la ocurrencia del evento.

7.2.3. Fracción de Expulsión Ventricular Izquierda (FEVI):

Definición conceptual: La función sistólica del ventrículo izquierdo es usualmente valorada por la FEVI en reposo. La FEVI es expresada como la proporción del volumen latido del ventrículo izquierdo (volumen diastólico final menos volumen sistólico final) dividido por el volumen diastólico final, el valor final se refiere en porcentaje. Su medición es generalmente realizada usando métodos no invasivos, tales como ecocardiograma bidimensional o tridimensional, ventriculografía con radionúclidos, resonancia magnética, etc. Entre los pacientes con disfunción sistólica del ventrículo izquierdo, el pronóstico varía inversamente con la FEVI.

Definición operacional: FEVI obtenida por ecocardiograma transtorácico de acuerdo a la conclusión del ecocardiografista que realizó el estudio. Para su análisis dividiremos a pacientes con FEVI <45% y pacientes con FEVI >45%, tomando dichos puntos de corte de acuerdo a resultados referidos en estudios previos.

Tipo de variable: Dicotómica nominal.

7.2.4. Troponinas:

Definición conceptual: Las troponinas cardíacas I (cTnI) y T (cTnT) son proteínas cardíacas reguladoras que controlan la interacción mediada por el calcio de la actina y la miosina. Ambos tienen grupos citosólicos (liberables primeramente) y estructurales, con la mayor concentración de troponina en el grupo estructural. Tanto cTnI y cTnT son marcadores específicos de daño miocárdico.

Definición operacional: Se graduará mediante las unidades reportadas por el laboratorio, tomando como valores normales los determinados por el mismo. Tomamos en cuenta dicho parámetro por resultados obtenidos en estudios previos.

Tipo de variable: Numérica cuantitativa continua.

7.2.5. Clase Funcional:

Definición conceptual: El sistema de clasificación que se utiliza con mayor frecuencia para cuantificar el grado de limitación funcional impuesta por falla cardiaca es el desarrollado por la New York Heart Association (NYHA). Este sistema asigna a los pacientes a una de las cuatro clases funcionales, dependiendo del grado de esfuerzo necesario para provocar síntomas:

- Clase I - Pacientes con enfermedad cardiaca sin limitación de la actividad física. La actividad física habitual no causa síntomas de insuficiencia cardiaca tales como fatiga o disnea.
- Clase II - Pacientes con enfermedad cardiaca con ligera limitación de la actividad física. Los síntomas de insuficiencia cardiaca se presentan con la actividad normal, pero no hay síntomas en reposo.
- Clase III - Pacientes con enfermedad cardiaca con una marcada limitación de la actividad física. Los síntomas de insuficiencia cardiaca se presentan con menos que la actividad física normal, pero no hay síntomas en reposo.
- Clase IV - Pacientes con enfermedad cardiaca con incapacidad para llevar a cabo cualquier actividad física sin molestias. Los síntomas de falla cardiaca pueden ocurrir incluso en reposo. Definición operacional: Se graduará con la escala desarrollada por la NYHA. Para su análisis dividiremos a pacientes con clase funcional I-II y pacientes con clase funcional III-IV, tomando dichos grupos de acuerdo a resultados referidos en estudios previos.

Tipo de variable: Dicotómica nominal.

7.2.6. Duración del QRS

Definición conceptual: La duración del QRS mayor a 120 mseg es considerado como prolongado.

Definición operacional: Se analizará el registro electrocardiográfico de superficie de 12 derivaciones obtenido del expediente clínico de acuerdo a las recomendaciones para la estandarización e interpretación del electrocardiograma de AHA/ACCF/HRS. Para su análisis se clasificará a pacientes con QRS prolongado (>120 mseg) o QRS normal.

Tipo de variable: Dicotómica nominal (Presente o ausente).

7.2.7. Síncope

Definición conceptual: El síncope es la pérdida brusca y transitoria de la conciencia asociada con la ausencia de tono postural, seguida de una recuperación espontánea completa y usualmente rápida.

Definición operacional: Se determinará su presencia o ausencia como manifestación clínica de miocarditis de acuerdo a lo referido en expediente clínico, tomando como referencia los resultados obtenidos en estudios previos

Tipo de variable: Dicotómica nominal (Presente o ausente).

7.2.8. Disfunción Ventricular Derecha

Definición conceptual: El movimiento predominante del ventrículo derecho (VD) es el acortamiento longitudinal, visible como descenso sistólico de la pared libre basal hacia el ápice. Un movimiento secundario es el engrosamiento radial, visible (aunque menos fácilmente) como engrosamiento sistólico del miocardio. Los parámetros ecocardiográficos cuantitativos utilizados para medir la función sistólica del VD son:

- Excursión sistólica del plano anular tricuspídeo (TAPSE): Refleja el acortamiento longitudinal del VD, se mide en el plano apical de cuatro cámaras mediante la colocación del cursor en modo M en el anillo tricuspídeo lateral y midiendo la distancia pico recorrida por este punto de referencia durante la sístole. Una mayor distancia recorrida durante la sístole implica una mayor función sistólica, el límite de referencia normal es ≥ 1.6 cm.
- Velocidad tricuspídea anular (S'): Refleja el desplazamiento longitudinal del VD. S' refleja la velocidad longitudinal del anillo tricuspídeo durante la sístole, se mide en la vista apical de cuatro cámaras mediante la colocación de un cursor Doppler tisular en el anillo tricuspídeo lateral y la medición de la velocidad pico de este punto de referencia durante la sístole. Una mayor velocidad durante la sístole implica una mayor función sistólica del VD, el límite de referencia normal es ≥ 10 cm/s.
- Cambio de área fraccional (FAC): Es el porcentaje de cambio en el área del VD de la diástole a la sístole, un sustituto de dos dimensiones para la fracción de eyección. FAC toma en cuenta el acortamiento longitudinal, así como el engrosamiento radial y la contribución del tabique interventricular. Se mide en la vista de cuatro cámaras apical trazando manualmente el contorno del VD al final de la diástole y al final de la sístole. La FAC se calcula restando el área telesistólica del VD al área telediastólica del VD y su resultado dividiéndole

entre el área telediastólica del VD, expresado en porcentaje. El límite normal de referencia es $\geq 35\%$.

Definición operacional: Cualquiera de los parámetros de función ventricular derecha previamente descritos obtenidos por ecocardiograma transtorácico de acuerdo a la conclusión del ecocardiografista que realizó el estudio. Para su análisis dividiremos a pacientes con presencia o ausencia de disfunción ventricular derecha (de acuerdo a límites normales de referencia). Dicha clasificación enfocada al cumplimiento de los objetivos de nuestro estudio al igual que en protocolos previos.

Tipo de variable: Dicotómica nominal.

7.2.9. Hipotensión Arterial

Definición conceptual: La hipotensión arterial es considerada con valores de presión arterial sistólica (PAS) menores a 90 mmHg y/o presión arterial media (PAM) menor a 70 mmHg; o una disminución de la PAS >40 mmHg en adultos o menor de dos desviaciones estándar por debajo de lo normal para la edad.

Definición operacional: Se tomará en cuenta el valor de TAS o TAM registrada al ingreso. Para su análisis se clasificará a pacientes con presencia o ausencia de hipotensión arterial, de acuerdo a los resultados obtenidos en estudios previos.

Tipo de variable: Dicotómica nominal.

8. Métodos:

8.1. Desparafinación: De las muestras embebidas en parafina se cortaron 5 secciones de 10 micrómetros. Entre cada corte se limpió la cuchilla del microtomo para remover ribonucleasas. Se eliminó el exceso de parafina alrededor del corte con una navaja de bisturí. Los primeros dos cortes se eliminaron. Los cortes recientes se colocaron inmediatamente en un microtubo y se cerraron. Las muestras se procesaron inmediatamente debido a que la humedad y el aire pueden degradar parte del RNA. Al bloque recién cortado se le puede colocar una capa de parafina para que el tejido no esté en contacto con el aire o cubrirlo con papel parafilm.

Al microtubo con los 5 cortes se agregó 1 ml de xilol. Posteriormente se incubó dos veces 3 minutos a 42 °C con agitación. Entre cada ocasión se centrifugó por 5 min y se eliminó el sobrenadante. El tejido se lavó con 1 ml de etanol absoluto 3 veces por 3 min a temperatura ambiente con agitación. Se centrifugó en cada ocasión a máxima velocidad (14000 rpm). El etanol residual se dejó evaporar por 5 minutos a temperatura ambiente o hasta que el tejido estuviera completamente seco.

8.2. Digestión de los tejidos: Al tejido se agregó 350 µl de buffer de digestión (Tabla 6) por muestra y se incubó a 42 °C hasta que el corte se digirió y se observó sin tejido (el tiempo vario de acuerdo al tiempo de fijación, edad del bloque).

Tabla 6. Buffer de Digestión

Reactivo o solución	Concentración Solución Stock	Concentración final por muestra	Volumen por muestra
Tris_HCl pH 7.8	1 M	20mM	7 µl
EDTA	0.5 M	10 mM	7 µl
Proteinasa K	20 mg/ml	500 µg/ml	11 µl
SDS	10 %	1 %	35 µl
H ₂ O DEPC			290 µl
Volumen total			350 µl

Si después de las primeras 24 horas todavía existe mucho tejido se pueden agregar 5 µl de proteinasa K (20 mg/ml). También se puede facilitar la disgregación de los tejidos mediante métodos físicos como maceración dentro del mismo tubo con un pistilo. En promedio la incubación es de 48 horas.

8.3. Extracción de RNA Total: De los tejidos degradados se procedió a extraer el RNA total usando el método de fenol ácido. Brevemente, a la solución lisada se agregó 500 ul de fenol-acido pre-calentado a 65°C (fase no orgánica inferior). Se agitó en vortex e incubará 5 min a 65°C. Nuevamente se agitó en vortex y se centrifugó a 14,000 rpm por 5 min a temperatura ambiente. La fase acuosa se pasó a un microtubo limpio donde se agregó 1 ml de etanol absoluto frío. Nuevamente se agitó en vortex y se incubó mínimo 30 min a -70°C para precipitar el RNA. Se centrifugó a 14,000 rpm por 10 minutos a 4°C y se decantó. Al precipitado obtenido se añadió 1 ml de etanol al 70% frío y se centrifugó a 12,000 rpm por 2 min a 4°C. Nuevamente se decantó y se resuspendió la pastilla en 400µl de solución A (Tabla 7). Se agitó en vortex y repitió la extracción con etanol absoluto. La pastilla se secó en el secador Speedvac (15-20 minutos aproximadamente, hasta que estuviera completamente seco): La pastilla se resuspendió en 30 µl de agua DEPC.

Tabla 7. Solución A (Solución de Lisis)

Reactivos o solución	Volumen (µl)	Concentración final
Agua DEPC	910	0.5 %
SDS 10%	50	20 mM
Acetato de Sodio 1M	20	10 mM
EDTA 0.5 M	20	
Volumen final	1000 µl	

8.4. Tratamiento con DNasa turbo para qRT-PCR: Se procedió a usar el paquete comercial de eliminación de DNA celular, para evitar contaminación en la reacción de PCR, usando el paquete comercial DNasa Turbo (Ambión catalogo AM1907), siguiendo las indicaciones del fabricante. Se determinó la concentración en un equipo Nanodrop y la pureza mediante una electroforesis en gel de agarosa. El RNA se guardó hasta su análisis a -70°C.

8.5. Expresión de CAR por RT-PCR en tiempo real (qRT-PCR): Para determinar la expresión de los genes de CAR en las muestras, se realizaron ensayos de RT-PCR en tiempo real. El RNA obtenido por cada muestra sirvió como template para la reacción de transcriptasa reversa usando un paquete comercial de fermentas (Paquete comercial cDNA Synthesis, catalogo K1612). El cDNA generado fue usado para la reacción de PCR en tiempo real usando un termociclador LightCycler® 480 de Roche y los siguientes pares de iniciadores⁷⁹:

Para el gen CAR:

5'-GCCCACTTCATGGTTAGCAG-3' y 5'-TACGGCTCTTTGGAGGTGGC-3'

Y para el gen constitutivo B-Actina:

5'- GGATGCCACAGGACTCCAT -3' y 5'- ATTGGCAATGAGCGGTTC -3'

Para la amplificación, se empleó el paquete comercial para PCR en tiempo real LightCycler® 480 SYBR Green I Master (Roche). La reacción de PCR se llevó a cabo en un volumen final de 10 µl, conteniendo 1.5 µl de agua estéril grado molecular incluida en el paquete comercial, 0.5 µl de cada uno de los iniciadores correspondientes a una concentración de 20 µM, 2.5 µl de cDNA a la dilución correspondiente y 5.0 µl de la mezcla de SYBR Green I Master 2X el cual contiene FastStart Taq DNA Polimerasa, amortiguador de reacción, mezcla de dNTP's, fluorocromo SYBR Green I y MgCl₂. Cada muestra se evaluó por duplicado. Con la mezcla de reacción se llenó cada pozo de la placa, se selló con una lámina plástica

adherente y se colocó en el equipo LightCycler® 480 (Roche). La expresión relativa de CAR fue calculada entre la expresión de CAR y el nivel de gen B-Actina determinado para cada muestra.

Para la cuantificación relativa se usó el análisis avanzado (cuantificación relativa avanzada), por eficiencia; de acuerdo al modelo matemático de Pfaffl, donde se determina la cuantificación relativa de un gen de interés en diferentes condiciones (en este caso la expresión del gen de CAR en cada muestra de Miocarditis activa comparada con la ausencia expresión de este mismo gen en el grupo control); la relación entre la expresión relativa (R) del gen de interés es calculada en base a la eficiencia (E) de la reacción (la cual se obtiene al someter tres diluciones seriadas base 10 del cDNA) y la diferencia de los puntos de cruce (ΔCP , del inglés crossing points) de una muestra de Miocarditis activa versus una muestra control ó una muestra del grupo miocarditis limítrofe. El gen B-Actina se utilizó como normalizador de la expresión genética. El equipo LightCycler® 480 cuenta con los programas matemáticos para llevar a cabo automáticamente el cálculo de la cuantificación relativa avanzada.

9. Encuesta a utilizar:

La encuesta o cuestionario utilizado en este protocolo se encuentra en el Anexo No. 1

10. Análisis Estadístico de los datos:

10.1. Análisis Inicial: La Clínica de Insuficiencia Cardíaca dispone de los expedientes clínicos completos para el seguimiento y análisis del punto final primario. Se procedió a analizar la distribución de las frecuencias de las diferentes variables consideradas en el estudio, utilizando para ello las medidas de resumen apropiadas a cada variable de acuerdo al nivel de medición y tipo de distribución. La consistencia en la medición de los ensayos se realizó mediante el coeficiente de variación.

10.2. Análisis de las Variables Estudiadas: Las diferencias en la expresión de CAR de los dos grupos se compararon mediante la prueba t de Student o la prueba de Mann-Whitney-U, según la normalidad de los datos. Las variables clínicas categóricas se compararon con la prueba exacta de Fisher o la prueba de chi-cuadrado. La relación entre la producción y severidad por el coeficiente de correlación de Pearson. El punto final primario fue el tiempo hasta el primer evento cardiovascular adverso mayor. Para estimar el tamaño del efecto, se calculó los odds ratios (OR) con intervalos de confianza (IC) del 95% con el uso de modelos de regresión logística. En el análisis de regresión logística se determinaron los valores predictivos de ARNm de CAR con posterior cálculo del área bajo las curvas de características operativas del receptor

(ROC) para cuantificar la precisión predictiva. Un área ROC de 0.5 significa que no hay valor discriminatorio, mientras que un área de 1.0 significa discriminación perfecta para la predicción de aquellos con y sin un punto final durante el seguimiento. El nivel de significancia estadística en todos los casos será determinado por un valor de $p < 0.05$ bimarginal.

VIII. Aspectos Éticos

Debido a que el estudio no contempló obtención de muestras, pues estas ya se tenían en bloques de parafina, sin ninguna otra intervención, con previo consentimiento informado, la realización de este estudio no presentó conflictos éticos. Por tal motivo este protocolo debe ser considerado como *investigación sin riesgo*, así clasificado por el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, Título segundo De los Aspectos éticos de la investigación en seres humanos, Artículo 17.

Si durante la realización del estudio o como parte de los resultados se encontró datos que pudiesen tener implicación en el tratamiento o evolución de la enfermedad, inmediatamente se notificó al sujeto en dicho estudio. Todo el tiempo se mantuvo en anonimato los datos personales de los pacientes implicados; y a las muestras obtenidas se les asignó un número foliado consecutivo, mientras que los datos personales así como los datos clínicos de los pacientes en estudio se mantuvieron en archivos individuales siendo resguardados por el equipo investigador responsable, de tal forma que durante el proceso de análisis de las muestras y los resultados no existió la posibilidad que coincidiera dicha información. Para poder participar en este protocolo se tuvo que firmar previamente un consentimiento informado, documento que fue leído por la persona potencialmente elegible, despejando todas las dudas existentes al momento de la firma; dicha autorización fue obtenida por cualquiera de los investigadores asociados.

Los aspectos de bioética se llevaron a cabo de acuerdo a los lineamientos dictados por el Código de Bioética para el personal de salud 2002, Capítulo VII, Bioética en la investigación en salud; del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, Título segundo De los Aspectos éticos de la investigación en seres humanos; así como a la Declaración de Helsinki vigente.

IX. Aspectos de bioseguridad

En la UIMEyP (Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias) se contó con la infraestructura para el procesamiento de las muestras. Los aspectos de bioseguridad en el laboratorio se llevaron a cabo de acuerdo a los lineamientos dictados por la Ley General de Salud (2012) Título quinto en investigación para la salud, artículo 96-103 y al Reglamento de la Ley General de Salud en materia de investigación para la Salud. También manifiesto que existe evidencia documental auditable de que: a) Se contó con los permisos y/o licencias oficiales que se requerían para llevar a cabo el trabajo propuesto; b) Las instalaciones de los laboratorios involucrados se encontraron en estado satisfactorio de operación y fueron adecuadas para llevar a cabo el trabajo propuesto; c) El equipo ha utilizar se encontró en estado satisfactorio de operación; d) Existen dispositivos personales de protección que se encontraron en estado satisfactorio de operación; e) Los involucrados en el proyecto, recibieron la capacitación necesaria para trabajar con el material señalado anteriormente; f) Se mantuvieron las condiciones adecuadas de instalaciones, equipo y personal durante el desarrollo del proyecto.

Al trabajar con muestras de tejido cardíaco que previamente fueron sometidas a procesamiento para incluirlas en parafina para su preservación, no se requirió de un manejo especial de bioseguridad para dichas muestras. Sin embargo en el procesamiento desde la muestra en parafina hasta la obtención de CAR por qRT-PCR se requirió de la utilización de sustancias tóxicas, peligrosas o explosivas, tales como xilol, etanol absoluto, EDTA, fenol-acido, etanol al 70%, etc., por lo que su manejo se llevó a cabo de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-007-SSA3-2011, Para la organización y funcionamiento de los laboratorios clínicos; así como a Norma Oficial Mexicana NOM-005-STPS-1998, Relativa a las condiciones de seguridad e higiene en los centros de trabajo para el manejo, transporte y almacenamiento de sustancias químicas peligrosas.

El hospital de Pediatría, al contar con instalaciones para el funcionamiento de laboratorios clínicos y de investigación, cuenta con protocolos bien establecidos para lograr el manejo adecuado de los Residuos Peligrosos Químicos (CRETIs), tomando como marco legal la Norma Oficial Mexicana NOM-052- SEMARNAT-2005, que establece las características, el procedimiento de identificación, clasificación y los listados de los residuos peligrosos; así como Norma Oficial Mexicana NOM-010-SCT2/2003, Disposiciones de compatibilidad y segregación, para el almacenamiento y transporte de sustancias, materiales y residuos peligrosos. La recolección y transporte interno de CRETIs, hacia el área de almacenamiento temporal, se encuentra a cargo de personal previamente capacitado que cuenta con el equipo de seguridad necesario para el desarrollo de dicha actividad; se cuenta con horarios, días y rutas bien diseñadas para su realización. Los residuos recolectados son depositados en el almacén temporal de residuos peligrosos, acondicionado según la normatividad vigente y posteriormente entregados a empresas de recolección y transporte externo, especializadas y autorizadas tanto por la Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT), como por la Secretaria

de Comunicaciones y Transportes (SCT) para realizar estas actividades.

En lo que respecta al resguardo de materiales biológicos (biocustodia), el mRNA obtenido de las muestras de las biopsias endomiocárdicas, fueron almacenados en al red fría (refrigeradores, ultracongeladores o cámaras de almacenamiento), equipos que se encuentran bajo llave en zonas de acceso restringido a personal de laboratorio. Cuando fue necesario el traspaso de materiales biológicos a diferentes zonas dentro del laboratorio, este proceso se llevó a cabo por el investigador titular o colaborador del protocolo. No se permitió la manipulación de dichas muestras por personas ajenas al proyecto de investigación.

X. Recursos, financiamiento y factibilidad

Los investigadores principales trabajaron en la realización del protocolo. Se utilizaron los instrumentos disponibles en la Unidad.

En el Departamento de Patología del Hospital de Cardiología se contó con el número de muestras necesarias para el cumplimiento de nuestros objetivos planteados, así como en la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias (UIMElyP) del Hospital de Pediatría se dispuso del equipo necesario para su procesamiento. Se contó con equipo para trabajar técnicas de biología molecular como termocicladores para PCR punto final, equipo para PCR en tiempo real y equipo necesario para electroforesis como cámaras de electroforesis, fuentes de poder, micropipetas, etc, distintos tipos de centrifugas, termomixers, termoblocks, refrigeradores, congeladores y ultracongeladores de -70°C. Dentro de recursos materiales se incluyó los expedientes clínicos de pacientes correspondientes al Hospital de Cardiología.

El grupo de trabajo incluyó al Dr. Cruz Montalvo, quien fungió como responsable del protocolo, con especialidad en Cardiología y doctorado en alta dirección, quien tiene experiencia en el diagnóstico y manejo terapéutico de pacientes con miocarditis y en el área de Investigación; al Dr. Núñez Méndez quién es residente del curso de especialización en Cardiología y se encuentra en convivencia estrecha con pacientes con dicha patología, vigilando su evolución clínica; al Dr. Moreno Ruiz, con especialidad en Cardiología, maestría en ciencias y doctorado en alta dirección; el Dr. Cesar Antonio Flores García, Jefe del Servicio de Patología de la UMAE Hospital de Cardiología como médico anatomopatólogo y a la Dra. Cárdenas-Mondragón, doctora en ciencias con especialidad en inmunología, quien ha llevado a cabo estudios de investigación básica con correlación clínica en diversas especialidades de la medicina, incluida Cardiología, con múltiples publicaciones de impacto internacional premiadas a nivel nacional.

Recursos Financieros: El estudio se llevó a cabo al interior de las instalaciones del Hospital de Cardiología Siglo XXI y la UIMElyP, con el equipamiento disponible en dichas unidades. Este estudio no tiene ningún financiamiento de industria.

XI. Resultados:

Descripción general de la población estudiada

Se analizaron un total de 34 casos de diagnosticados histopatológicamente por biopsia endomiocárdica con la enfermedad a estudiar en un periodo comprendido 2009-2021, de los cuales 20 corresponden a paciente con miocarditis activa y 14 con miocarditis limítrofe de acuerdo a criterios de Dallas; en la Tabla 7 se resumen las características principales de la población en estudio.

La muestra total se encontraba conformado por 61.76% de género masculino y 38.24% femenino con un promedio de edad de 38 años (DS \pm 14 años) de los cuales el 67.65% cursaba con sobrepeso/obesidad, 3 casos con diabetes mellitus tipo 2 (8.82%), 5 con hipertensión arterial sistémica (14.71%), 6 casos de dislipidemia (17.65%) y 16 con antecedente de tabaquismo previo (47.06%). Dicha población en estudio el 55.88% tenían antecedente de infección reciente, de los cuales el 94.74% son de origen respiratorio y el restante gastrointestinal.

El cuadro clínico de presentación al momento del diagnóstico comprendió la presencia de los siguientes síntomas: dolor torácico (61.76%), disnea (61.76%), palpitaciones (32.35%) y síncope (26.47%), que se presentaron de forma aislada o en combinación máxima de 4, con una mediana de dos síntomas. Solo 5 casos de la muestra total (14.71%) presentó hipotensión al momento de su ingreso con un 35.3% presentando una exploración física compatible con datos de insuficiencia cardiaca.

En cuanto a los estudios de laboratorio, el 50% de los casos presentaron elevación de Troponina T hs por encima del percentil 99 con una mediana de la muestra total de 3.2 ng/ml con rango entre 0.05-20 ng/ml, una mediana de BNP 167 ng/ml (rango 75.7-805), y una mediana de CPK-MB de 14 U/L (rango 8.12-22).

Del total de la población objetivo en este estudio, el 35.3% presentó un QRS prolongado por electrocardiografía con rangos entre 120-170 mseg. Un 5% de la población presentó un bloqueo aurículo-ventricular completo así como un evento de taquicardia ventricular sostenida al momento de su ingreso, sin embargo, un 20.59% de población requirió estimulación definitiva a su egreso.

Ecocardiográficamente el 58.8% de la población presentó una fracción eyección del ventrículo izquierdo menor del 45%. Solo el 26.5% de la población tenía datos de disfunción sistólica del ventrículo derecho. En la tabla 7 en el apartado ecocardiograma inicial se describen las principales características ecocardiográficas presentes al momento del diagnóstico de miocarditis.

En cuanto al tratamiento que recibieron los pacientes, el 79.41% de la población fue sometido a un tratamiento combinado consistente en el uso de inmunosupresores y tratamiento para insuficiencia cardiaca. Los medicamentos más utilizados fueron IECA/ARA II en el 70.29% de los pacientes,

diuréticos de asa en el 64.71%, β -bloqueadores 79.41%, antagonistas de aldosterona 70.59%, esteroides intravenosos 73.53%, esteroides orales 76.47% y azatioprina 64.71%

Tabla 7. Características y presentación clínica de los pacientes al inicio del estudio	
Característica	(N=34)
Edad (años), media (DS)	38±14
Sexo masculino - no. (%)	21 (61.76)
Sobrepeso/Obesidad - no. (%)	23 (67.65)
Diabetes Mellitus tipo 2 - no. (%)	3 (8.82)
Hipertensión Arterial Sistémica - no. (%)	5 (14.71)
Dislipidemia - no. (%)	6 (17.65)
Infección Reciente - no. (%)	19 (55.88)
• Infección de vías respiratorias - no. (%)	18 (94.74)
• Infección gastrointestinal - no. (%)	1 (5.26)
• Tabaquismo - no. (%)	16 (47.06)
Síntomas	
Dolor Torácico - no. (%)	21 (61.76)
Disnea - no. (%)	31 (91.18)
• NYHA I - no. (%)	10 (29.41)
• NYHA II - no. (%)	8 (23.53)
• NYHA III - no. (%)	11 (32.35)
• NYHA IV - no. (%)	2 (5.88)
• Palpitaciones - no. (%)	11 (32.35)
• Síncope - no. (%)	9 (26.47)
Presentación Clínica	
PAS <90 mmHg - no. (%)	5 (14.71)
Frecuencia Cardíaca (lpm), media (DS)	84 ±25
Estertores - no. (%)	34 (100)
• KK I - no. (%)	22 (64.71)
• KK 2 - no. (%)	11 (32.35)
• KK 3 - no. (%)	1 (2.94)
Laboratorios	
Troponina T hs (ng/ml), mediana (rango)	3.2 (0.05-20)
BNP (ng/ml), mediana (rango)	167 (75.7-805)
CPK (U/L), mediana (rango)	71.5 (54-157)
CPK-MB (U/L), mediana (rango)	14 (8.12-22)
Electrocardiograma:	
QRS (mseg), media (DS)	110±29
Bloqueo AV Completo - no. (%)	5 (14.71)
TV Sostenida - no. (%)	5 (14.71)
Ecocardiograma Inicial	

<ul style="list-style-type: none"> • FEVI (%), media (DS) • DDVI (mm), media (DS) • DDSVI (mm), media (DS) • TAPSE (mm), media (DS) • Onda S Tric (m/s), media (DS) • PSAP (mmHg), media (DS) 	39±15.8 54±9.2 43±10.5 19±4.4 10.2±2.25 37.5±13.5
Diagnóstico Histopatológico	
Miocarditis Activa - no. (%)	23 (62.2)
Miocarditis Limítrofe - no. (%)	14 (37.8)
Tratamiento	
Tratamiento Combinado - no. (%)	27 (79.41)
Tratamiento Insuficiencia Cardíaca	
<ul style="list-style-type: none"> • IECA/ARA II - no. (%) • Beta-bloqueador - no. (%) • Diurético de ASA - no. (%) • Antagonista de Aldosterona - no. (%) 	24 (70.59) 27 (79.41) 22 (64.71) 24 (70.59)
Tratamiento Inmunosupresor	
<ul style="list-style-type: none"> • Esteroide Oral - no. (%) • Esteroide Parenteral - no. (%) • Azatioprina - no. (%) • Ácido Micofenólico - no. (%) • Inmunoglobulina - no. (%) • Estimulación Definitiva - no. (%) 	26 (76.47) 25 (73.53) 22 (64.71) 3 (8.82) 1 (2.94) 7 (20.59)

Comparación de pacientes con expresión relativa baja y alta de CAR

Las características clínicas de los paciente con expresión relativa se resumen en la Tabla 8. No hubo diferencias significativas en la edad, sexo, factores de riesgo cardiovascular, presentación clínica y paraclínicos incluyendo electrocardiograma y ecocardiograma inicial. Se identificó que los pacientes con expresión baja de CAR recibieron más comúnmente esteroide oral (94.12% VS 58.82%, $p=0.015$) así como Azatioprina (82.35% VS 47.06%, $p=0.031$), mientras con los pacientes con paciente con expresión alta de CAR requirieron mayor estimulación definitiva a su egreso (5.88% VS 35.39%, $p= 0.034$). No existieron diferencias significativas respecto a la presencia de datos severidad, respuesta al tratamiento, sintomatología y ecocardiograma de seguimiento, así como el diagnóstico histopatológico.

Tabla 8. Comparación de Pacientes con Expresión Relativa Baja y Alta de CAR			
Variable	Expresión Baja de CAR N=17	Expresión Alta de CAR N=17	Valor p
Edad (años)	33±12	42±14	0.056

Género - no. (%)			
• Masculino - no. (%)	11 (64.71)	10 (58.82)	0.724
• Femenino - no. (%)	6 (35.9)	7 (41.18)	
Sobrepeso/Obesidad - no. (%)	10 (58.82)	13 (76.47)	0.271
Diabetes Mellitus tipo 2 - no. (%)	1 (5.88)	2 (11.76)	0.545
Hipertensión Arterial Sistémica - no. (%)	4 (23.53)	1 (5.88)	0.146
Dislipidemia - no. (%)	3 (17.65)	3 (17.65)	1.000
Infección Reciente - no. (%)	12 (70.59)	7 (41.18)	0.084
Tabaquismo - no. (%)	8 (47.06)	8 (47.06)	1.000
Síntomas			
Dolor Torácico - no. (%)	12 (70.59)	9 (52.94)	0.290
Disnea - no. (%)			
• NYHA I - no. (%)	6 (35.39)	4 (23.53)	0.935
• NYHA II - no. (%)	4 (23.53)	4 (23.53)	
• NYHA III - no. (%)	5 (29.41)	6 (35.29)	
• NYHA IV - no. (%)	1 (5.88)	1 (5.88)	
Palpitaciones - no. (%)	5 (29.41)	6 (35.29)	0.714
Síncope - no. (%)	3 (17.65)	6 (35.39)	0.244
Presentación Clínica			
PAS <90 mmHg - no. (%)	4 (23.53)	1 (5.88)	0.146
Frecuencia Cardíaca (lpm)	84±22	84±28	0.972
Estertores - no. (%)			
• KK I - no. (%)	11 (64.71)	11 (64.71)	0.580
• KK 2 - no. (%)	6 (35.29)	5 (29.41)	
• KK 3 - no. (%)	0 (0)	1 (5.88)	
Laboratorios			
Troponina T hs (ng/ml)	62±228	21±159	0.472
BNP (ng/ml)	474±709	358±342	0.599
CPK (U/L)	278±479	126±150	0.332
CPK-MB (U/L)	24±48	22±18	0.88
Electrocardiograma:			
QRS (mseg)	108±29	111±30	0.781
Bloqueo AV Completo - no. (%)	2 (11.76)	3 (17.65)	0.628
TV Sostenida - no. (%)	2 (11.76)	3 (17.65)	0.628
Ecocardiograma Inicial			
FEVI (%)	39±19	37±12	0.727

DDVI (mm)	55±11	53±8	0.445
DDSVI (mm)	43±13	43±8	0.506
TAPSE (mm)	19±5	18±4	0.422
Onda S Tric (m/s)	10±3	10±2	0.883
PSAP (mmHg)	37±17	37±11	0.980
Tratamiento			
Tratamiento Insuficiencia Cardíaca			
• IECA/ARA II - no. (%)	11 (64.71)	13 (76.47)	0.452
• Beta-bloqueador - no. (%)	14 (82.35)	13 (76.47)	0.671
• Diurético de ASA - no. (%)	11 (64.71)	11 (64.71)	1.000
• Antagonista de Aldosterona - no. (%)	11 (64.71)	13 (76.47)	0.508
Tratamiento Inmunosupresor			
• Esteroide Oral - no. (%)	16 (94.12)	10 (58.82)	0.015
• Esteroide Parenteral - no. (%)	15 (88.24)	10 (58.10)	0.052
• Azatioprina - no. (%)	14 (82.35)	8 (47.06)	0.031
• Ácido Micofenólico - no. (%)	2 (11.76)	1 (5.88)	0.545
• Inmunoglobulina - no. (%)	0 (0)	1 (5.88)	0.310
Estimulación Definitiva - no. (%)	1 (5.88)	6 (35.39)	0.034
Respuesta a Tratamiento - no (%)	8 (47.06)	10 (58.82)	0.492
Ecocardiograma Seguimiento			
FEVI (%)	51±17	46±16	0.403
DDVI (mm)	50±11	52±9	0.457
DDSVI (mm)	35±11	39±13	0.311
TAPSE (mm)	20±3	20±5	0.964
Onda S Tric (m/s)	11±2	11±2	0.623
PSAP (mmHg)	34±12	36±10	0.5358
Ecocardiograma valores diferencial			
FEVI Diferencial (%)	11.5±5	8.6±4	0.638
DDVI Diferencial (mm)	-5.5±2	-0.35±1.7	0.0518
DDSVI Diferencial (mm)	-8±2.3	-3.7±2.3	0.201
PSAP Diferencial (mmHg)	-4.8±2.6	-1.5±3.2	0.431
Síntomas al Seguimiento			
• Dolor Torácico - no. (%)	3 (17.65)	3 (17.65)	0.549
• Palpitaciones - no. (%)	3 (17.65)	2 (11.76)	
• Disnea (NYHA)			
• NYHA II	2 (11.76)	3 (17.65)	
• NYHA IV	1 (5.88)	0 (0.0)	
Diagnóstico Histopatológico			
Miocarditis Activa - no. (%)	9 (52.94)	11 (64.71)	0.486
Miocarditis Limítrofe - no. (%)	8 (47.06)	6 (35.29)	

Datos de Severidad			
FEVI <45%	9 (52.94)	11 (64.71)	0.486
Troponina T Percentil >99	6 (35.39)	11 (64.71)	0.086
Clase funcional III-IV	7 (41.18)	8 (47.06)	0.730
QRS >120 mess	5 (29.41)	7 (41.18)	0.473
Síncope al ingreso	4 (23.53)	5 (29.41)	0.697
Disfunción del VD	2 (11.76)	7 (41.18)	0.052
Hipotensión Arterial	5 (29.41)	4 (23.53)	0.697
Número de Criterios de Severidad	2.1±0.36	3.1±0.42	0.104

Magnitud de la asociación de la expresión relativa de CAR

Se realizó una curva de Características Operativas del Receptor (ROC) con cálculo del índice de Youden (Figura 4) identificando un valor de corte de 7.425 CAR/Actina (correspondiente a la mediana de la expresión relativa de CAR) como mejor predictor para el desarrollo eventos cardiovasculares con aproximadamente 2 veces el riesgo para el desarrollo del desenlace primario por cada aumento de 100 unidades arbitrarias de expresión relativa de CAR (HR 1.97, [IC95% 1.22-3.17], p=0.005) con área bajo la curva de 0.79.

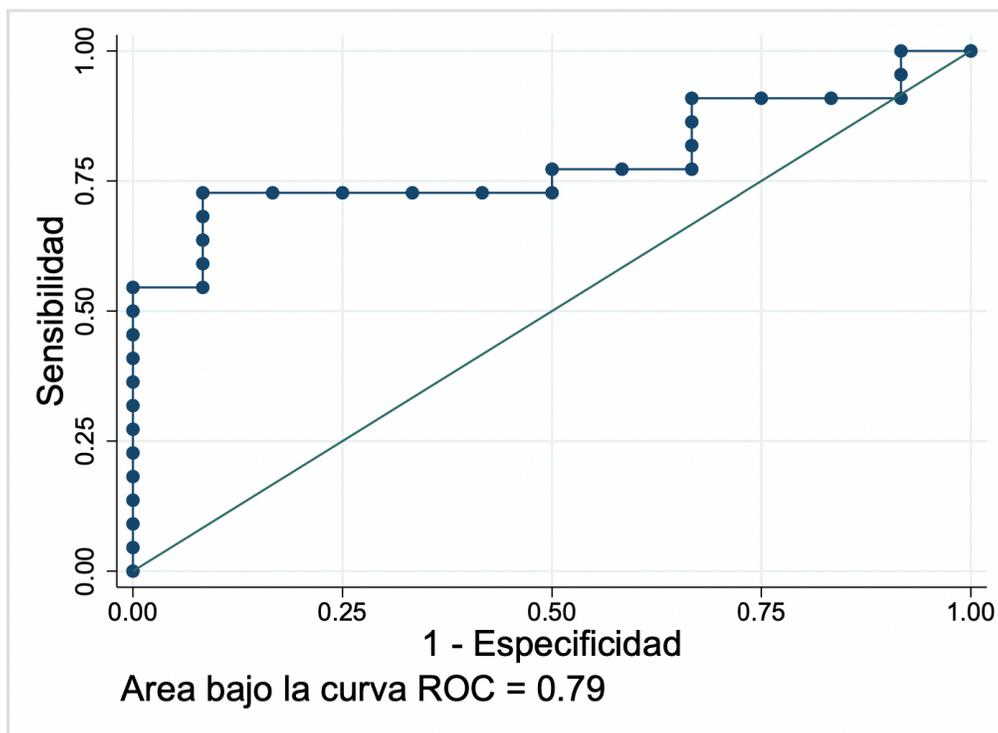


Figura 4. Curva ROC en relación a expresión relativa de CAR y desarrollo de eventos cardiovasculares mayores.

En las figuras 5 y 6 se presentan las curvas de Kaplan-Meier comparando la baja o alta expresión relativa de CAR con respecto al desarrollo de eventos cardiovasculares mayores con evidencia de mayor probabilidad de presentar el desenlace primario a mayor expresión relativa de CAR guiado principalmente por la hospitalización por descompensación por insuficiencia cardiaca.

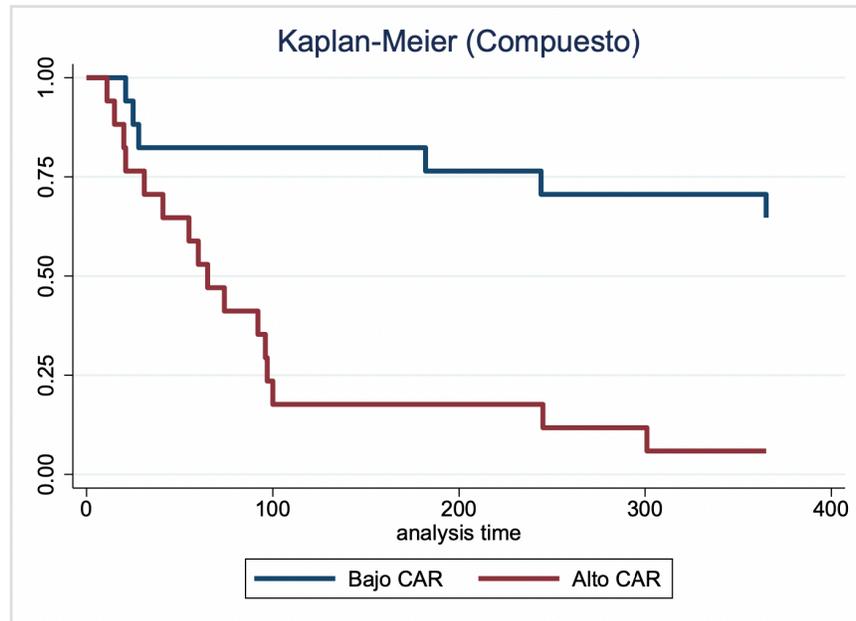


Figura 5. Curva de Kaplan-Meier para el Compuesto de Eventos Cardiovasculares Mayores comparando la baja y alta expresión relativa de CAR.

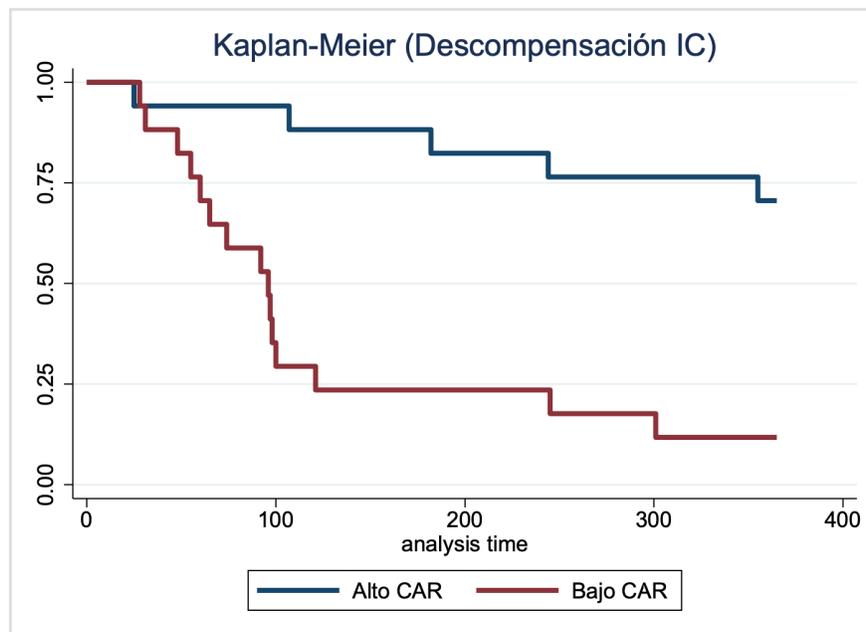


Figura 6. Curva de Kaplan-Meier para Descompensación por Insuficiencia Cardiaca comparando la baja y alta expresión relativa de CAR.

XII. Discusión

La miocarditis es una entidad clínica con formas de presentación variable, en un espectro que incluye desde pacientes asintomáticos no diagnosticados hasta personas que debutan con muerte súbita cuyo diagnóstico se realiza post-mortem, pasando por cuadros clínicos compatibles con síndrome isquémico coronario agudo o falla cardíaca en diferentes grados. De forma similar a lo reportado por Hufnagel, et al (23), nosotros documentamos que las principales manifestaciones clínicas en pacientes sintomáticos son dolor torácico, disnea, palpitaciones y síncope, en dicho orden de frecuencia.

En la literatura mundial se reporta el antecedente de infección reciente como uno de los principales factores predisponentes para el desarrollo de miocarditis; nosotros documentamos que en más de la mitad de nuestra población (55.8%) se pudo identificar la presencia de dicho factor, principalmente de vías respiratorias, cifra muy similar a la obtenida por Guillén, et al (2).

La miocarditis se puede clasificar tomando en cuenta diversas características entre las que destacan agente causal, hallazgos histológicos (criterios de Dallas) (7), tiempo de evolución, horizonte clínico-patológico, entre otros; sin embargo la clasificación histológica es la más utilizada y hasta la actualidad es el estándar de oro para su diagnóstico. Durante nuestro estudio no observamos diferencias clínicas estadísticamente significativas entre los dos grupos que incluye dicha clasificación, observando edades de presentación, factores de riesgo cardiovascular y factores predisponentes similares; de la misma manera no encontramos diferencia respecto a las características iniciales de presentación y en su seguimiento.

En nuestro estudio documentamos la presencia de bloqueo AV de alto grado en el 23% de los pacientes, taquicardia sinusal en 26.9%, taquicardia ventricular no sostenida/ extrasistolia ventricular en 38.5%, taquicardia ventricular sostenida en 11.6% y taquicardia de origen supraventricular no sinusal en 7.7%. Un 5% de la población presentó un bloqueo aurículo-ventricular completo así como un evento de taquicardia ventricular sostenida al momento de su ingreso, sin embargo, un 20.59% de población requirió estimulación definitiva a su egreso particularmente en el grupo con alta expresión relativa de CAR. Respecto a los trastornos de conducción Kawamura, et al (64) encontraron alteraciones en 43% de 214 pacientes, incluyendo 25% con bloqueo AV completo; Quintero, et al (65) reporta una incidencia de 18%. Guillén, et al (2) comenta la presencia de bloqueo AV en 10% de su población estudiada, 35% de taquicardia sinusal y 6% de taquicardia ventricular. Nakashima, et al (66) estudiaron las características electrocardiográficas iniciales y su evolución en 11 pacientes con miocarditis, documentando taquiarritmias en el 55% de la muestra, de los cuales 45% presentaron en algún momento taquicardia sinusal y el mismo porcentaje para taquicardia ventricular; 64% cursaron con alteraciones de la conducción, de los cuales 4 pacientes tenían bloqueo AV de segundo grado y/o avanzado.

Contraria al tratamiento habitual establecido para la miocarditis en otros centros hospitalarios, más del 85% de los pacientes recibieron alguna terapia con inmunosupresores aunado al tratamiento sindromáticos. Durante este estudio se identificó el grupo de pacientes con baja expresión relativa

de CAR recibió mayor porcentaje de esteroide oral así como azatioprina con una diferencia estadísticamente significativa con respecto al grupo con expresión relativa alta de CAR.

Respecto al comportamiento de CAR en presencia de miocarditis, como mencionamos ampliamente en secciones previas, la mayoría de información proviene de estudios realizados en animales y sólo algunos casos en estudios humanos de pacientes con miocardiopatía dilatada forman parte de su muestra, de tal forma que no se conoce con certeza el comportamiento de dicha proteína en la miocarditis humana. García-Becerril & Cruz-Montalvo valoraron la asociación entre los niveles de expresión relativa del CAR y la respuesta a la terapia inmunosupresora o convencional así como con el tipo de miocarditis histológica identificando que los pacientes que respondieron a la terapia exhibieron niveles más altos de CAR en comparación con los pacientes que no respondieron al tratamiento. A lo mejor de nuestro conocimiento, no existe literatura que evalúe la asociación entre la expresión relativa de CAR y el desarrollo de eventos cardiovasculares mayores.

En este estudio se encontró una diferencia significativa con respecto a la alta expresión relativa de CAR y el desarrollo de eventos cardiovasculares mayores identificando un valor de corte de 7.425 CAR/Actina (correspondiente a la mediana de la expresión relativa de CAR) como mejor predictor para el desarrollo eventos cardiovasculares con aproximadamente 2 veces el riesgo para el desarrollo del desenlace primario por cada aumento de 100 unidades arbitrarias de expresión relativa de CAR (HR 1.97, [IC95% 1.22-3.17], $p=0.005$) con área bajo la curva de 0.79. De esta manera el grado de expresión de CAR podría no solo ser pronóstico, sino además una herramienta para orientar el manejo farmacológico del paciente con miocarditis.

XIII. Limitaciones del Estudio:

Debido a la baja incidencia de la enfermedad, el número de pacientes y el bajo número de eventos cardiovasculares mayores, los resultados de este estudio pueden tener ciertas limitaciones. A pesar que se encontró una asociación entre la mayor expresión relativa de CAR y el desarrollo de eventos cardiovasculares mayores, estos fueron guiados principalmente por el desarrollo de descompensación de insuficiencia cardíaca ante la baja frecuencia de otros eventos cardiovasculares. A su vez, presenta la limitación de presentar un seguimiento al año sin conocer el peso que podrían presentar estos hallazgos a largo plazo. Durante el estudio se identificó que el grupo de expresión relativa baja de CAR recibió mayor porcentaje de tratamiento inmunosupresor pudiendo presentar una variable determinante para el desarrollo de eventos cardiovasculares motivo por lo cual tendría que realizarse un ensayo clínico aleatorizado para corroborar dichos hallazgos. Esta investigación representa un estudio generador de nuevas hipótesis y por lo tanto de nuevos proyectos encaminados a reforzar dichos hallazgos los cuales pueden trascender en la identificación temprana de pacientes que podrían beneficiarse del tratamiento así como la determinación oportuna de su pronóstico.

XIV. Conclusiones:

- La miocarditis es una entidad clínica con amplio espectro clínico lo cual hace difícil su diagnóstico y con serias repercusiones en el estado funcional de los pacientes a largo plazo, aunado al impacto económico y social que esto representa.
- La expresión elevada de CAR se asocia con una mayor frecuencia para el desarrollo de eventos cardiovasculares mayores, particularmente por descompensación de insuficiencia cardiaca que amerita hospitalización, independientemente del diagnóstico histopatológico.
- Una expresión relativa de 7.425 CAR/Actina representó el punto de corte que mejor predijo el desarrollo de eventos cardiovasculares mayores.

-

XV. Referencias:

1. Richardson P, McKenna W, Brilow M, et al. Report of the 1995 World Health Organization/ International Society and Federation of Cardiology Task Force on the Definition and Classification of cardiomyopathies. *Circulation* 1996;93:841-842.
2. Guillén OF, Soto ME, Reyes PA. Miocarditis aguda primaria. Experiencia de diez años en el Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez". *Arch Cardiol Mex* 2005; 75(suppl 3): 81-88.
3. Blauwet LA, Cooper LT. Myocarditis. *Prog Cardiovasc Dis* 2010; 52:274-288.
4. Fabre A, Sheppard MN. Sudden adult death syndrome and other non- ischaemic causes of sudden cardiac death. *Heart* 2006;92:316-320.
5. Drory Y, Turetz Y, Hiss Y, et al. Sudden unexpected death in persons less than 40 years of age. *Am J Cardiol* 1991;68:1388-1392.
6. Guía de Práctica Clínica. Diagnóstico y Tratamiento de Miocarditis Aguda para el 1, 2 y 3 Nivel de Atención Médica. México: Secretaría de Salud, 2010.
7. Aretz H, Myocarditis: The Dallas Criteria. *Human Pathology* 1987; 18:619 -624
8. Kindermann I, Barth C, Mahfoud F, et al. Update on Myocarditis. *J Am Coll Cardiol* 2012;59:779-792.
9. Andréoletti L, Lévêque N, Boulagnon C, et al. Viral causes of human myocarditis. *Arch Cardiovasc Dis* 2009;102:559-568.
10. Klingel K, Sauter M, Bock CT, Szalay G, Schnorr JJ, Kandolf R. Molecular pathology of inflammatory cardiomyopathy. *Med Microbiol Immunol.* 2004;193:101–107. doi: 10.1007/s00430-003-0190-1.
11. Kandolf R, Klingel K, Mertsching H, Canu A, Hohenadl C, Zell R, Reimann BY, Heim A, McManus BM, Foulis AK. Molecular studies on enteroviral heart disease: patterns of acute and persistent infections. *Eur Heart J.* 1991;12(suppl D):49–55.
12. Griffin LD, Kearney D, Ni J, Jaffe R, Fricker FJ, Webber S, Demmler G, Gelb BD, Towbin JA. Analysis of formalin-fixed and frozen myocardial autopsy samples for viral genome in childhood myocarditis and dilated cardiomyopathy with endocardial fibroelastosis using polymerase chain reaction (PCR). *Cardiovasc Pathol.* 1995;4:3–11.
13. Bowles NE, Ni J, Kearney DL, Pauschinger M, Schultheiss HP, McCarthy R, Hare J, Bricker JT, Bowles KR, Towbin JA. Detection of viruses in myocardial tissues by polymerase chain reaction. evidence of adenovirus as a common cause of myocarditis in children and adults. *J Am Coll Cardiol.* 2003;42:466–472.

14. Kühl U, Pauschinger M, Seeberg B, Lassner D, Noutsias M, Poller W, Schultheiss HP. Viral persistence in the myocardium is associated with progressive cardiac dysfunction. *Circulation*. 2005;112:1965–1970. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.548156
15. Breinholt JP, Moulik M, Dreyer WJ, Denfield SW, Kim JJ, Jefferies JL, Rossano JW, Gates CM, Clunie SK, Bowles KR, Kearney DL, Bowles NE, Towbin JA. Viral epidemiologic shift in inflammatory heart disease: the increasing involvement of parvovirus B19 in the myocardium of pedi-atric cardiac transplant patients. *J Heart Lung Transplant*. 2010;29:739–746. doi: 10.1016/j.healun.2010.03.003.
16. Gaaloul I, Riabi S, Harrath R, Hunter T, Hamda KB, Ghzala AB, Huber S, Aouni M. Coxsackievirus B detection in cases of myocarditis, myo-pericarditis, pericarditis and dilated cardiomyopathy in hospitalized pa-tients. *Mol Med Rep*. 2014;10:2811–2818. doi: 10.3892/mmr.2014.2578
17. Cooper LT Jr, Knowlton KU. Myocarditis. In: Mann DI, Zipes DP, Libby P, Bonow RO, eds. *Braunwald's Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine*. Philadelphia, PA: Elsevier; 2015:1589–1602.
18. Caforio AL, Calabrese F, Angelini A, Tona F, Vinci A, Bottaro S, Ramondo A, Carturan E, Iliceto S, Thiene G, Daliento L. A prospec-tive study of biopsy-proven myocarditis: prognostic relevance of clinical and aetiopathogenetic features at diagnosis. *Eur Heart J*. 2007;28:1326–1333. doi: 10.1093/eurheartj/ehm076.
19. Crowell RL, Landau BJ. A short history and introductory background on the coxsackieviruses of group B. *Curr Top Microbiol Immunol*. 1997;223:1–11.
20. Schultz JC, Hilliard AA, Cooper LT Jr, Rihal CS. Diagnosis and treat-ment of viral myocarditis. *Mayo Clin Proc*. 2009;84:1001–1009. doi: 10.1016/S0025-6196(11)60670-8.
21. Andréoletti L, Ventéo L, Douche-Aourik F, Canas F, Lorin de la Grandmaison G, Jacques J, Moret H, Jovenin N, Mosnier JF, Matta M, Duband S, Pluot M, Pozzetto B, Bourlet T. Active coxsackieviral B infec-tion is associated with disruption of dystrophin in endomyocardial tissue of patients who died suddenly of acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2007;50:2207–2214. doi: 10.1016/j.jacc.2007.07.080.
22. Yilmaz A, Klingel K, Kandolf R, Sechtem U. A geographical mystery: do car-diotropic viruses respect national borders? *J Am Coll Cardiol*. 2008;52:82; author reply 82–82; author reply 83. doi: 10.1016/j.jacc.2008.01.072.
23. Hufnagel G, Sabine P, Richtes A, et al. The European Study of Epidemiology and Treatment of Cardiac Inflammatory Diseases (ESETCID): First epidemiological results. *Herz* 2000;25:279-285. 8. Kindermann I, Barth C, Mahfoud F, et al. Update on Myocarditis. *J Am Coll Cardiol* 2012;59:779-792.
24. Morgera T, Di Lenarda A, Dreas L, Pinamonti B, Humar F, Bussani R, Silvestri F, Chersevani D, Camerini F. Electrocardiography of myocardi-tis revisited: clinical and prognostic significance of electrocardiographic changes. *Am Heart J*. 1992;124:455–467.

25. Ukena C, Mahfoud F, Kindermann I, Kandolf R, Kindermann M, Böhm M. Prognostic electrocardiographic parameters in patients with suspected myo-carditis. *Eur J Heart Fail.* 2011;13:398–405. doi: 10.1093/eurjhf/hfq229.
26. Felker GM, Boehmer JP, Hruban RH, Hutchins GM, Kasper EK, Baughman KL, Hare JM. Echocardiographic findings in fulminant and acute myocarditis. *J Am Coll Cardiol.* 2000;36:227–232.
27. Friedrich MG, Sechtem U, Schulz-Menger J, et al. International Consensus Group on Cardiovascular Magnetic Resonance in Myocarditis. Cardiovascular magnetic resonance in myocarditis: A JACC White Paper. *J Am Coll Cardiol.* 2009;53:1475–87.
28. Caforio ALP, Pankewit S, Arbustini E, et al. Current state of knowledge on aetiology, diagnosis, management, and therapy of myocarditis: a position statement of the European Society of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. *Euro Heart J* 2013;34:2636-2648.
29. Liu P, Mason J. Advances in the Understanding of Myocarditis. *Circulation* 2001;104:1076-1082.
30. Cooper L, Baughman K, Feldman A, et al. The role of endomyocardial biopsy in the management of cardiovascular disease. A Scientific Statement from the American Heart Association, the American College of Cardiology, and the European Society of Cardiology Endorsed by the Heart Failure Society of America and the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology. *European Heart Journal.* 2007;28:3076–3093.
31. Kindermann I, Barth C, Mahfoud F, Ukena C, Lenski M, Yilmaz A, Klingel K, Kandolf R, Sechtem U, Cooper LT, Bohm M. Update on myocarditis. *J Am Coll Cardiol* 2012;59:779 – 792.
32. Dennert R, Crijns HJ, Heymans S. Acute viral myocarditis. *Eur Heart J* 2008;29:2073 – 2082.
33. McCarthy RE 3rd, Boehmer JP, Hruban RH, Hutchins GM, Kasper EK, Hare JM, Baughman KL. Long-term outcome of fulminant myocarditis as compared with acute (nonfulminant) myocarditis. *N Engl J Med* 2000;342:690 – 695.
34. Japanese Circulation Society (JCS) Joint Working Group. Guidelines for diagnosis and treatment of myocarditis (JCS 2009). *Circ J* 2011;75:734 – 743.
35. Mahrholdt H, Wagner A, Deluigi CC, Kispert E, Hager S, Meinhardt G, Vogelsberg H, Fritz P, Dippón J, Bock CT, Klingel K, Kandolf R, Sechtem U. Presentation, patterns of myocardial damage, and clinical course of viral myocarditis. *Circulation* 2006;114:1581 – 1590.
36. Kuhl U, Lassner D, von Schlippenbach J, Poller W, Schultheiss HP. Interferon-beta improves survival in Enterovirus-associated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2012;60:1295 – 1296.
37. Grün S, Schumm J, Greulich S, Wagner A, Schneider S, Bruder O, Kispert E-M, Hill S, Ong P, Klingel K, Kandolf R, Sechtem U, Mahrholdt H. Long-term follow-up of biopsy-proven viral

- myocarditis. Predictors of mortality and incomplete recovery. *J Am Coll Cardiol* 2012;59:1604 – 1615.
38. Kindermann I, Kindermann M, Kandolf R, Klingel K, Bültmann B, Müller T, Lindinger A, Böhm M. Predictors of outcome in patients with suspected myocarditis. *Circulation* 2008;118:639 – 648.
 39. ESC Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure. *European Heart Journal* 2016;37:2129-2200 – doi: 10.1093/eur-heartj/ehw128.
 40. Liu PP, Mason JW. Advances in the understanding of myocarditis. *Circulation* 2001;104:1076 – 1082.
 41. Woodruff JF. Viral myocarditis. A review. *Am J Pathol* 1980;101:425 – 484.
 42. Malkiel S, Kuan AP, Diamond B. Autoimmunity in heart disease: mechanisms and genetic susceptibility. *Mol Med Today* 1996;2:336 – 342
 43. Kuhl U, Pauschinger M, Schwimmbeck PL, Seeberg B, Lober C, Noutsias M, Poller W, Schultheiss HP. Interferon-beta treatment eliminates cardiotropic viruses and improves left ventricular function in patients with myocardial persistence of viral genomes and left ventricular dysfunction. *Circulation* 2003;107:2793 – 2798.
 44. Schultheiss HP.: The Effect of Subcutaneous Treatment with Interferon-Beta-1b Over 24 Weeks on Safety, Virus Elimination and Clinical Outcome in Patients with Chronic Viral Cardiomyopathy. Paper presented at: American Heart Association Scientific Sessions; November 11, 2008; New Orleans, LA.
 45. Gullestad L, Aass H, Fjeld JG, Wikeby L, Andreassen AK, Ihlen H, Simonsen S, Kjekshus J, Nitter-Hauge S, Ueland T, Lien E, Frøland SS, Aukrust P. Immunomodulating therapy with intravenous immunoglobulin in patients with chronic heart failure. *Circulation* 2001;103:220 – 225.
 46. McNamara DM, Holubkov R, Starling RC, Dec GW, Loh E, Torre-Amione G, Gass A, Janosko K, Tokarczyk T, Kessler P, Mann DL, Feldman AM. Controlled trial of intravenous immune globulin in recent-onset dilated cardiomyopathy. *Circulation* 2001;103:2254 – 2259.
 47. Bowles KR, Gibson J, Wu J, et al. Genomic organization and chromosomal localization of the human Coxsackievirus B - adenovirus receptor gene. *Hum Genet* 1999;105:354-359.
 48. Tatrai E, Bedi K, Kovalszky I, et al. No mutation but high mRNA expression of Coxsackie-Adenovirus Receptor was observed in both dilated and ischemic cardiomyopathy. *Forensic Sci Int* 2011;212:47-50.
 49. Esfandiari M, McManus BM. Molecular biology and pathogenesis of viral myocarditis. *Annu Rev Pathol* 2008;3:127-155.
 50. Martino TA, Petric M, Brown M, et al. Cardiovirulent coxsackieviruses and the decay-accelerating factor (CD55) receptor. *Virology* 1998;244:302.

51. Freimuth P, Philipson L, Carson D. The Coxsackievirus and Adenovirus Receptor. In: Tracy S, Oberste M, Drescher K, editors. *Current topics in Microbiology and immunology: Group B Coxsackievirus*. Alemania: Springer; 2008. p. 67-87.
52. Tomko RP, Xu R, Philipson L. HCAR and MCAR: the human and mouse cellular receptors for subgroup C adenoviruses and group B coxsackieviruses. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:3352-3356.
53. Lisewski U, Shi Y, Wrackmeyer U, et al. The tight junction protein CAR regulates cardiac conduction and cell-cell communication. *J Exp Med* 2008;205:s2369–79.
54. Lim BK, Xiong D, Dorner A, et al. Coxsackievirus and adenovirus receptor (CAR) mediates atrioventricular-node function and connexin 45 localization in the murine heart. *J Clin Invest* 2008;118:2758-2770.
55. Epelman S, Liu PP, Mann DL. Role of innate and adaptative immune mechanisms in cardiac injury and repair. *Nat Rev Immunol* 2015;15:117-129
56. Reeh M, Bockhorn M, Görgens D, et al. Presence of the Coxsackievirus and Adenovirus Receptor (CAR) in human neoplasms: a multitumour array analysis. *Br J Cancer* 2013;109:1848-1858.
57. Asher DR, Cerny AM, Weiler SR, et al. Coxsackievirus and adenovirus receptor is essential for cardiomyocyte development. *Genesis* 2005;42:77-85.
58. Dorner AA, Wegmann F, Butz S, et al. Coxsackievirus-adenovirus receptor (CAR) is essential for early embryonic cardiac development. *J Cell Sci* 2005;118:3509–3521.
59. Chen JW, Zhou B, Yu QC, et al. Cardiomyocyte-specific deletion of the coxsackievirus and adenovirus receptor results in hyperplasia of the embryonic left ventricle and abnormalities of sinuatrial valves. *Circ Res* 2006;98:923–930.
60. Fischer R, Polen W, Schultheiss HP, et al. CAR-diology - A virus receptor in the healthy and diseased heart. *J Mol Med* 2009;87:879-884.
61. Tripta K, Bajjayantimala M, Uma NS, et al. Expression of coxsackievirus and adenovirus receptor and its cellular localization in myocardial tissues of dilated cardiomyopathy. *Exp Clin Cardiol* 2012;17:183-186.
62. Qiang L, Xiai-jia S, Yan Y, et al. Correlation between virus persistent infection and cardiac function in patients with dilated cardiomyopathy. *J Zhejiang Univ Sci B* 2013;14:749-753.
63. Gustavo E. GarcíaBecerril G, Anibal E. CruzMontalvo A, Miguel A. De La Cruz M, Ares M, MorenoRuiz L. Differential expression of coxsackievirus and adenovirus receptor in endomyocardial tissue of patients with myocarditis. *Molecular Medicine rePorTS* 20: 2189-2198, 2019.
64. Kawamura K, Kotaka M, Kitaura Y. Arrhythmias and conduction disturbances in viral and idiopathic myocarditis: a multicenter survey in Japan. In: Oslen EGJ, Sekiguchi M, editors.

Cardiomyopathy Update 3 Restrictive Cardiomyopathy and Arrhythmias. Tokyo: University of Tokyo Press; 1990. p. 203.

65. Quintero AE, Barrera VG. El electrocardiograma en la miocarditis y la virosis sistémica en niños. *Rev Mex Pediatr* 2013;80:72-75.
66. Nakashima H, Honda Y, Katayama T. Serial electrocardiographic findings in acute myocarditis. *Internal medicine* 1994;33:659-666.

XVI. Anexos:

Anexo 1. Folio de Protocolo.

Mtro. ANIBAL EDUARDO CRUZ MONTALVO:

Recientemente, se le asignó el número de folio **F-2021-3604-031** al protocolo con título **Asociación entre Niveles de Expresión Relativa del Receptor Coxsackievirus- Adenovirus (CAR) Y Eventos Cardiovasculares Adversos Mayores en Pacientes con Miocarditis en la UMAE Hospital de Cardiología CMN Siglo XXI**, con lo que se inicia el proceso de evaluación.

Le sugerimos dar seguimiento a la evaluación del trabajo ingresando a la página del [SIRELCIS](#).

Atentamente

Administradores SIRELCIS

Nota: Mensaje generado automáticamente, no es necesario que lo conteste.

Anexo 2. Encuesta a utilizar. (Paciente con diagnóstico de miocarditis).

Encuesta a utilizar (paciente con diagnóstico de miocarditis).

Título del protocolo. Asociación entre Niveles de Expresión Relativa del Receptor Cocksackievirus-Adenovirus (CAR) Y Eventos Cardiovasculares Adversos Mayores en Pacientes con Miocarditis en la UMAE Hospital de Cardiología CMN Siglo XXI

Fecha de llenado:				
Datos Generales				
Nombre			Edad	
Número de afiliación		Datos de localización		
Datos de patología				
Folio de Biopsia de patología				
Fecha de realización de biopsia:	D i a g n ó s t i c o histopatológico:		Miocarditis linfocítica:	Miocarditis limítrofe:
Antecedentes:				
Diabetes Mellitus 2 (Si/No)		Hipertensión arterial sistémica (Si/No)		Dislipidemia (Si/No)
Tabaquismo (Si/No)		Sobrepeso/Obesidad (Si/No)		Infección resistente (Si/No)
Tipo de infección resistente:		Historia cardiovascular		
Cuadro clínico				
Disnea (Grado I-IV NYHA)		Dolor torácico (presente/ausente)		Palpitaciones (presente/ausente)
Síncope (presente/ausente)		Número de síntomas presentes		
Exploración Física:				
Hipotensión arterial (Si/No)			Frecuencia cardiaca	
Presencia de estertores (Si/No)				
Estudios de Laboratorio y/o gabinete a su ingreso:				
Reporte de cateterismo cardiaco:				
EKG				
Duración del complejo QRS			Presencia del bloqueo AV y tipo (Si/No)	
Presencia de taquiarritmia y tipo de la misma (Si/No)				

Ecocardiograma							
Diámetro Diastólico:		Diámetro sistólico:		FEVI:		TAPSE:	
Onda S tricúspidea		Fracción de acortamiento:		PASAP:			
Otras variables:							
Tratamiento:							
Tratamiento de insuficiencia cardiaca (Si/No)				Tratamiento inmunomodulador (Si/No)			
Tipo de tratamiento de insuficiencia cardiaca empleado:							
Tipo de tratamiento inmunomodulador empleado:							
Seguimiento:							
Clase Funcional NYHS (I-IV):				Síntomas (disnea, dolor torácico, palpitaciones, síncope)			
FEVI:		Diámetro diastólico:		Diámetro sistólico		TAPSE	
Onda S tricúspidea		PASAP.		Fracción de acortamiento:			
Tiempo de seguimiento:							
Severidad de la Enfermedad							
FEVI <45% (Si/No)		Troponinas elevadas (Si/No)			Clase Funcional III-IV (Si/No)		
QRS prolongado (Si/No)		Síncope (Si/No)			Disfunción del VD (Si/No)		
Hipotensión arterial (Si/No)					Número de criterios presentes		

Anexo 3. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES.

Durante los dos primeros semestres se realizará la estandarización de los métodos y la recolección de los datos, en el tercer semestre se redactará con los resultados obtenidos un manuscrito y en el cuarto semestre se publicará un artículo en una revista internacional con arbitraje e indizada, de acuerdo a la siguiente tabla:

Fases del desarrollo del protocolo	Actividades	1er año		2do año	
		Semestre			
		1er	2do	3er	4to
Estandarización de métodos o instrumentos	Valoración de pacientes y obtención de las biopsias líquidas	■			
	Desparafinación de las BEM y Digestión de los tejidos	■	■		
	Extracción de RNA total de la BEM y obtención de suero de la biopsia líquida.	■	■		
	Tratamiento con DNasa turbo para RT-qPCR	■	■	■	
	Análisis de la expresión de CAR por RT-qPCR		■	■	
Recolección de datos	Análisis de la expresión relativa de CAR			■	
	Análisis de expedientes clínicos			■	
	Algunos de los resultados obtenidos se almacenarán en base de datos y otros se analizarán en el momento.			■	
Análisis de resultados			■		
Redacción del escrito final	Escritura del manuscrito				■
Trabajo publicado	Publicación del artículo				■

Anexo 4. Carta de Consentimiento informado (Adultos).



DIRECCIÓN DE PRESTACIONES MÉDICAS
Unidad de Educación Investigación Políticas en Salud
Coordinación de Investigación en Salud
UMAE Hospital de Cardiología/UMAE Hospital de Pediatría
Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN (Paciente)

Ciudad de México, a ____ de _____ de 202__.

Proyecto: "Asociación entre Niveles de Expresión Relativa del Receptor Coxsackievirus-Adenovirus (CAR) Y Eventos Cardiovasculares Adversos Mayores en Pacientes con Miocarditis en la UMAE Hospital de Cardiología CMN Siglo XXI".

Justificación y objetivo del estudio: Lo estamos invitando a participar en un proyecto de investigación que tiene como propósito evaluar si la presencia de unas proteínas llamada Receptor Coxsackievirus-Adenovirus (CAR) en las muestras de tejido cardiaco de pacientes que tienen Miocarditis (inflamación del corazón causada generalmente por un virus) son diferentes en personas con Miocarditis sin la presencia de esta proteína. También queremos evaluar si la cantidad de estas proteínas varía de acuerdo con la gravedad de esta enfermedad. Se le hace esta invitación porque a usted se le detectó Miocarditis. Su participación en el estudio es totalmente voluntaria, por favor lea la información que se encuentra a continuación, haga las preguntas que usted considere antes de tomar una decisión.

Procedimientos: Su participación en el estudio consistirá en autorizar que una fracción de la biopsia (toma de tejido cardiaco) que le fue realizada como parte del estudio para detectar la Miocarditis sea utilizada por nosotros, le aclaramos que esta fracción será "sobrante", esto es, la muestra que nos sea proporcionada por el servicio que las conserva, no interfiere con su diagnóstico o tratamiento. Y contestará en una sola ocasión a unas preguntas relacionadas a su enfermedad y algunos antecedentes ambientales y familiares; responder estas preguntas tomará un tiempo no mayor a cinco minutos.

Posibles Riesgos y Molestias: No se tiene contemplado la toma de muestras nuevas, por lo que no se generarán riesgos o molestias y no le haremos ningún procedimiento adicional, el cuestionario no contiene preguntas que lo pudieran hacer sentir incómodo.

Posibles beneficios que recibirá al participar en el estudio, así como información sobre resultados y alternativas de tratamiento: Si bien usted no recibirá un beneficio directo al participar en el estudio, los resultados permitirán conocer si esta proteína en las muestras de tejido cardiaco se asocian con la miocarditis y con la forma en que la enfermedad se presenta, lo que pudiera ser de utilidad en el futuro para pacientes con Miocarditis.

Participación o retiro: Su participación en este proyecto es voluntaria y su deseo de participar o no hacerlo, no tendrán ninguna implicación en la atención médica que usted recibe por parte de nuestra institución.

Privacidad y confidencialidad: Para asegurar que sus datos permanecerán confidenciales en este proyecto, le informamos que sus muestras se marcaran con códigos (un número consecutivo), separados de sus datos personales y clínicos, por lo que quién las maneje no tendrá posibilidad de identificarlo, lo que garantiza que sus datos y los resultados siempre serán confidenciales y no se darán a conocer a otras personas, ni se mencionarán en cualquier publicación de los resultados.

En caso de dudas o aclaraciones relacionadas con el estudio podrá dirigirse con el Dr. Aníbal Eduardo Cruz Montalvo Tel. 56276900 ext. 22100 y 22102. En un horario de lunes a viernes de 8:00 a 16:00 Hrs.

En caso de dudas sobre sus derechos como participante de este estudio de investigación podrá dirigirse a: Comisión de Ética de Investigación de la CNIC del IMSS: Avenida Cuauhtémoc 330 4° piso Bloque "B" de la Unidad de Congresos, Colonia Doctores. Ciudad de México, CP 06720. Teléfono 55 56 27 69 00 extensión 21230, Correo electrónico: comiteeticainv.imss@gmail.com

Declaración de consentimiento informado:

Se me ha explicado con claridad en qué consiste este estudio, además he leído (o alguien me ha leído) el contenido de este formato de consentimiento. Se me ha dado la oportunidad de hacer preguntas y todas mis preguntas han sido contestadas a mi satisfacción. Se me ha dado una copia de este formato.

() No autorizo la utilización de mi muestra de tejido cardiaco.

() Sí autorizo la utilización de mi muestra de tejido cardiaco.

Al firmar este formato estoy de acuerdo en participar en la investigación que aquí se describe.

Nombre y firma del Participante

Fecha

Firma del encargado de obtener el consentimiento informado

Le he explicado el estudio de investigación al participante y he contestado todas sus preguntas. Considero que comprendió la información descrita en este documento y libremente da su consentimiento a participar en este estudio de investigación.

Nombre y firma del encargado de obtener el consentimiento informado

Fecha

Firma de los testigos

Mi firma como testigo certifica que el/la participante firmó este formato de consentimiento informado en mi presencia, de manera voluntaria.

Nombre, firma y dirección del Testigo 1

Parentesco con participante

Fecha

Av. Cuauhtémoc No. 330, UMAE Hospital de Pediatría, 2do Piso,
del Centro Médico Nacional Siglo XXI, Col. Doctores, Alcaldía Cuauhtémoc,
Ciudad de México, C. P. 06720, Tel. conmutador 56276900 Ext. 22407

Página 1 de 1

2019
SEMILLANO ZAPATA

Anexo 5. Carta de Anuencia de Bioseguridad.

CARTA DE ANUENCIA DE BIOSEGURIDAD CON IMPLICACIONES DE BIOSEGURIDAD

Quien suscribe **DR. ANIBAL EDUARDO CRUZ MONTALVO**, INVESTIGADOR PRINCIPAL, con número de matrícula 98382812, adscrito a la UNIDAD DE CUIDADOS INTENSIVOS CORONARIOS UMAE HOSPITAL DE CARDIOLOGIA SIGLO XXI hace constar que el protocolo titulado "Asociación entre Niveles de Expresión Relativa del Receptor Coxsackievirus-Adenovirus (CAR) Y Eventos Cardiovasculares Adversos Mayores en Pacientes con Miocarditis en la UMAE Hospital de Cardiología CMN Siglo XXI" del cual soy responsable, TIENE IMPLICACIONES DE BIOSEGURIDAD debido a que se trabajará con (marcar las opciones que apliquen):

- Material biológico infecto-contagioso: _____
- Cepas patógenas de bacterias o parásitos: _____
- Virus: (virus) _____
- Material radiactivo: [radioisótopo(s)] _____
- Animales y/o células y/o vegetales genéticamente modificados: (tipo de material) _____
- Sustancias tóxicas, peligrosas o explosivas: etanol, xilol _____
- Material que puede poner en riesgo la salud o la integridad física del personal de salud o los derechohabientes del IMSS o afectar al medio ambiente: (tipo de material) _____
- Animales (de laboratorio, granja o vida silvestre): (animales) _____
- Trasplante de células, tejidos u órganos: _____
- Terapia celular: _____

Asimismo, declara que conoce, ha leído y cumplirá las normas, reglamentos y manuales de bioseguridad que apliquen al proyecto. Las Normas Oficiales que aplican al proyecto son NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002 para desechos RPBI

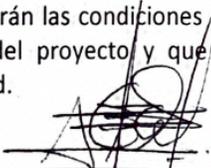
NOM-007- SSA3-2011 relativa a las condiciones de seguridad e higiene en los centros de trabajo para el manejo, transporte y almacenamiento de sustancias químicas peligrosas.

NOM-052- SEMARNAT-2005 Que establece las características, el procedimiento de identificación, clasificación y los listados de los residuos peligrosos;

NOM-010-SCT2/2003, Disposiciones de compatibilidad y segregación, para el almacenamiento y transporte de sustancias, materiales y residuos peligrosos

También manifiesta que existe evidencia documental auditable de que:

- a) Se cuenta con los permisos y/o licencias oficiales que se requieran para llevar a cabo el trabajo propuesto.
- b) Las instalaciones de los laboratorios involucrados se encuentran en estado satisfactorio de operación y son adecuadas para llevar a cabo el trabajo propuesto.
- c) El equipo a utilizar se encuentra en estado satisfactorio de operación.
- d) Existen dispositivos personales de protección que se encuentran en estado satisfactorio de operación.
- e) Los involucrados en el proyecto, incluyendo a los estudiantes que participen en el mismo, han recibido la capacitación necesaria para trabajar con el material señalado anteriormente.
- f) Se mantendrán las condiciones adecuadas de instalaciones, equipo y personal durante el desarrollo del proyecto y que el protocolo se suspenderá en caso de haber alguna irregularidad.



DR. ANIBAL EDUARDO CRUZ MONTALVO
RESPONSABLE DEL PROYECTO