



11262  
13

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

INSTITUTO MEXICANO DEL  
SEGURO SOCIAL

CENTRO MÉDICO NACIONAL  
"SIGLO XXI"  
HOSPITAL DE CARDIOLOGÍA

TESIS DE POSTGRADO  
PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS

TITULO: 275702

Acetil-CoA y Bioenergética  
en la Cardiomiopatía dilatada

AUTOR: DR. GUSTAVO FRANCISCO MÉNDEZ MACHADO  
TUTOR: DR. RUBEN ARGÜERO SÁNCHEZ  
CO-TUTORES: DR. ARMANDO MANSILLA OLIVARES  
QFB. CECILIA VILAR ROJAS

2000



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## **AGRADECIMIENTOS**

A DIOS....

Por permitirme existir en este breve espacio

A MIS PADRES....

Por brindarme su amor, su guía y su ejemplo, que espero algún día igualar

A HAYDEA Y GUSTAVO....

Por ser mi impulso vital y la luz de mi existencia

A MIS MAESTROS DR. RUBEN ARGÜERO Y ARMANDO MANSILLA....

Por ser el ejemplo a seguir en mi quehacer profesional y humano

AL INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL... .

Por permitirme crecer como ser humano en sus instalaciones

A MIS PACIENTES....

Por confrontar mi conciencia y ética ante su confianza

<b>INDICE</b>	<b>Pagina</b>
AGRADECIMIENTOS	3
ANTECEDENTES	4
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	12
OBJETIVOS	14
HIPOTESIS	15
VARIABLES	16
MATERIAL Y METODOS	19
ANALISIS ESTADISTICO	25
CONSIDERACIONES ETICAS	26
RESULTADOS	29
DISCUSION	31
CONCLUSIONES	35
BIBLIOGRAFIA	36
TABLAS Y FIGURAS	40
APENDICES	44
HOJAS DE RECOLECCION DE DATOS	47

## ANTECEDENTES

La Cardiomiopatía dilatada (CMD) es una entidad nosológica que se caracteriza por dilatación uni o biventricular, crecimiento cardíaco y alteraciones en la función contráctil. Sólo en los Estados Unidos de Norteamérica la prevalencia es de 20 casos por 100,000 habitantes y la incidencia de 6 casos cada 100,000 habitantes por año. La evolución natural de esta enfermedad, culmina irremediablemente con la muerte en el 75% de los casos durante los primeros 5 años después del diagnóstico<sup>1-4</sup>.

En la mayoría de los pacientes con CMD, difícilmente se logra identificar el agente etiológico, ya que son mas de 75 los factores que se han asociado con aquellas lesiones del músculo cardíaco, que pueden en una u otra forma, contribuir con el desarrollo de esta enfermedad<sup>2</sup>. El único factor etiológico que ha podido asociarse directamente ha sido la infección viral del miocardio, no obstante que solo en el 15% de los pacientes con miocarditis viral se presenta esta enfermedad y que únicamente el 5 al 10% de los pacientes con CMD, presenta datos histopatológicos compatibles con miocarditis. Por otro lado, la incidencia familiar es del 20%, con un patrón de herencia actualmente no definido<sup>2</sup>.

Desde el punto de vista macroscópico se observa dilatación y elongación de las cuatro cavidades cardíacas, fundamentalmente de los ventrículos, ya que estos se dilatan mas que las aurículas<sup>2</sup>.

Por otro lado, se presenta también en algunos de los casos, un incremento en el grosor de la pared ventricular, pero el grado de esta hipertrofia es frecuentemente desproporcionado en comparación con la gran dilatación de las cavidades ventriculares. En el tejido obtenido por biopsia endomiocárdica es evidente la presencia de fibrosis intersticial, infiltrados celulares, hipertrofia celular y degeneración de células miocárdicas. Sin embargo, no obstante que las características histopatológicas son determinantes, es realmente complejo establecer el criterio específico que permite discernir y determinar cual fue la causa desencadenante, aún utilizando métodos inmunológicos, histoquímicos, morfológicos, estructurales o microbiológicos<sup>2</sup>.

Es decir, con base en estos conceptos, podemos afirmar que el diagnóstico etiológico de CMD actualmente, solo debe establecer por exclusión, una vez descartadas las causas específicas de daño miocárdico como son: las deficiencias metabólicas (hipertiroidismo, acromegalia, hipotiroidismo), las deficiencias nutricionales (tiamina, selenio, fósforo, carnitina), la actividad mediada por toxinas (alcohol, antraciclinas, 5-fluoracilo), las enfermedades del tejido conectivo y el embarazo en sí mismo<sup>1-6</sup>.

Con relación a la fisiopatología de la CMD idiopática, esta se ha enfocado desde cuatro diferentes puntos de vista: 1) Genético, 2) Infeccioso o citotóxico, 3) Auto inmune y 4) Metabólico<sup>7</sup>.

Resulta conveniente mencionar que el músculo cardíaco, desde el punto de vista bioquímico-metabólico, utiliza una diversa variedad de sustratos como fuente de energía, como son los ácidos grasos y la glucosa. Son también potenciales fuentes de alimentación el lactato, el piruvato, los cuerpos cetónicos y en menor proporción los aminoácidos. Durante el ayuno, el promedio de extracción oxidativa es del 60% para los ácidos grasos libres, del 28% para la glucosa y del 11% para el lactato<sup>8,9</sup>. Los ácidos grasos ingresan a la mitocondria de la fibra muscular cardíaca mediante el sistema de la L-carnitina, y posteriormente a la vía de la  $\beta$ -oxidación para formar Acetil-Coenzima-A (Acetil-CoA). Esta a su vez, entra al ciclo de los ácidos tricarboxílicos que se lleva a cabo dentro de la misma mitocondria, desencadenando la liberación de los protones necesarios para la formación de intermediarios bioenergéticos (dinucleótido de nicotinamida y adenina reducido NADH) y la génesis finalmente, de adenosin-trifosfato (ATP)<sup>8,9</sup>.

Estudios experimentales en corazones de rata perfundidos, han demostrado que los ácidos grasos continúan siendo el sustrato más utilizado para el metabolismo oxidativo, aun en condiciones de trabajo cardíaco extremo. Cuando el tejido cardíaco se perfunde con glucosa como único sustrato, su oxidación proporciona exclusivamente, el 40% del consumo total de oxígeno. Lo cual, nos permite concluir que los lípidos endógenos en comparación con los carbohidratos, son también utilizados como sustrato preferencial en estas circunstancias<sup>8</sup>.

La utilización global de ácidos grasos depende de la cantidad de sustrato libre disponible y de la demanda energética del tejido. Su límite superior se alcanza cuando el aporte del sustrato excede al de la capacidad de la célula para unirlo y convertirlo a grupos Acilo, a  $\text{CO}_2$ , a lípidos complejos o a intermediarios metabólicos. Estudios experimentales en corazones perfundidos, han demostrado que las concentraciones tisulares de Acil-CoA y de Acil-carnitina, se elevan al suministrar palmitato en condiciones de trabajo constantes; de tal forma que cuando la concentración de palmitato oscila entre 0.4 y 1.2 mM, el contenido tisular de Acil-CoA de cadena larga y de Acetil-CoA, se incrementan en un 50 y en un 400% respectivamente<sup>8</sup>. Al adicionar bajas concentraciones de palmitato, su utilización se ve limitada por la disponibilidad de ácidos grasos libres; mientras que en presencia de altas concentraciones, su utilización depende de la capacidad que posee el ciclo de los ácidos tricarbóxicos para oxidar Acetil-CoA e intermediarios acilo acumulados en el tejido<sup>8,9</sup>.

El tejido miocárdico de pacientes con CMD idiopática presenta una disminución de los niveles de ATP en proporción al grado de disfunción miocárdica<sup>7,10,11</sup>. En estos pacientes los datos clínicos de insuficiencia cardíaca están directamente relacionados con una reducción en la biosíntesis energética de ATP<sup>12</sup>. El estado definido como "Corazón hambriento", es lo suficientemente descriptivo como para comprender que la depleción de fosfatos de alta energía que se presenta en estos pacientes, se relaciona con algunas alteraciones de la función tanto sistólica como diastólica<sup>13,14</sup>.

Por otro lado, estudios de resonancia magnética nuclear para la determinación del índice fosfocreatina :  $\beta$ -adenosintrifosfato en pacientes con CMD, nos permiten observar una deficiencia en la generación de fosfatos de alta energía<sup>6,15</sup>. Los trastornos que sufre el metabolismo bioenergético en la CMD, parecen depender de factores tales como alteraciones en la función de las membranas mitocondriales<sup>10</sup>, desequilibrio en la relación creatina : fosfocreatina<sup>7,11</sup>, trastornos en la constante de Michaelis (Km) de la creatinfosfoquinasa e incluso, alteraciones en el metabolismo del ATP<sup>7</sup>.

Otros estudios en cambio, señalan que tanto en estos pacientes como en modelos animales, la distribución de fosfatos de alta energía es anormal, aunque que se acompaña de alteraciones en la relación fosfocreatina : ATP. La diferencia en la producción de fosfatos de alta energía en la fibra muscular cardíaca entre pacientes con CMD y sujetos sanos, oscila entre el 20 y el 30%<sup>15-18</sup>.

La  $\beta$ -oxidación es una vía metabólica que requiere la presencia de carnitina, hidroxácido soluble en agua, derivado del metabolismo de la lisina (figura1)<sup>19,20</sup>.

La carnitina participa en el transporte de la Acil-CoA a través de la membrana mitocondrial, formando AcilL-carnitina por medio de la acil-carnitina-transferasa I. Ingresa posteriormente a la matriz mitocondrial, donde por medio de la acil-carnitina-transferasa II libera carnitina y Acil-CoA<sup>19,20</sup>.

La deficiencia congénita de carnitina puede desencadenar cardiomiopatía dilatada, la que potencialmente es reversible<sup>19</sup>. Por otro lado, los pacientes con déficit sistémico de L-carnitina, al presentar una alteración en la oxidación de los ácidos grasos, manifiestan un cuadro clínico similar al de la CMD. En ellos se ha demostrado además, *disminución de las concentraciones intracelulares de carnitina*, en contraste con sus concentraciones séricas<sup>21</sup>.

En modelos animales en los que se logra desarrollar CMD (Hámsteres Sirios), el rendimiento cardiaco mejora mediante la administración de L-carnitina, al incrementar posiblemente la concentración de fosfatos de alta energía<sup>19-21</sup>. Del mismo modo, modelos de ischemia reperfusión tratados con L-carnitina mostraron la recuperación de la contractilidad miocárdica afectada por este fenómeno. Estableciendo el posible rol benéfico de está sobre la aparición del aturdimiento del miocardio<sup>22</sup>.

A pesar de las evidencias científicas antes señaladas, otros estudios parecen indicar que la administración de L-carnitina puede acelerar la actividad de la piruvato-deshidrogenasa, afectando el metabolismo bioenergético en forma opuesta a la esperada, al producir Acetil-CoA a partir del metabolismo de las hexosas y en consecuencia, disminuir la utilización de ácidos grasos<sup>19,20</sup>.

Los estudios clínicos realizados en humanos con insuficiencia cardíaca pero sin CMD tratados con L-carnitina, mostraron mejoría en su función, cuando se calificaron de acuerdo a la clasificación de la Asociación Neoyorquina del Corazón de Nueva York (NYHA). Esta mejoría en su clase funcional se presentó en el 66% de los pacientes, posiblemente por la capacidad que tiene la carnitina para revertir la inhibición de la traslocasa del nucleótido de adenina y con ello, restaurar la oxidación de los ácidos grasos<sup>23,24</sup>. Otros estudios han reportado información contradictoria sobre el papel benéfico de la administración de L-carnitina en pacientes con daño miocárdico, ya que la mejoría clínica observada aparentemente es similar a la del grupo con placebo<sup>25</sup>.

Los pacientes pediátricos con CMD secundaria a una deficiencia primaria de carnitina, responden en forma dramática al tratamiento sustitutivo; pero aquellos con deficiencia secundaria, no responden en forma satisfactoria<sup>26</sup>.

Los ensayos clínicos doble ciego efectuados para evaluar el uso de L-propionilcarnitina en el tratamiento de la disfunción ventricular izquierda, demuestran que se puede obtener mejoría clínica; sin embargo, estos reportes adolecen de un adecuado tamaño de la muestra y carecen de seguimiento a corto y largo plazo<sup>27</sup>.

— Recientemente se ha publicado evidencia clínica de que la administración prolongada de L-carnitina incrementa la capacidad física de los pacientes con cardiomiopatía isquémica, considerando que dicha mejoría clínica es por el equilibrio en el balance bioenergético de la fibra miocárdica<sup>28</sup>.

Con base en estos conceptos, resulta evidente la importancia de la investigación del metabolismo bioenergético de la fibra muscular cardíaca en la CMD, ya que posiblemente de ello, así como del estudio genético, depende la comprensión de los aspectos más profundos y detallados de la fisiopatología de esta entidad nosológica y por ende, la solución de tan grave alteración.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La Cardiomiopatía dilatada idiopática (CMD) es una enfermedad primaria de etiología desconocida, que se caracteriza por la dilatación ventricular izquierda o bien, dilatación biventricular, y que se acompaña de alteraciones en la función contráctil. Su incidencia anual varía entre 5 a 8 casos por cada 100,000 habitantes<sup>1-6</sup>.

La trascendencia de esta entidad nosológica radica en que, una vez que el paciente manifiesta rasgos de la enfermedad, su pronóstico para la función así como para la vida es malo, ya que su mortalidad es hasta del 25 al 30% en un año, y del 75% a los 5 años. La muerte, en la mayoría de los casos, es consecuencia de insuficiencia cardíaca progresiva<sup>5-6</sup>.

La etiopatogenia y fisiopatología de esta enfermedad, aún no se ha descrito por completo, aunque las investigaciones se han enfocado en cuatro grandes subgrupos: 1) Genético, 2) Infeccioso o citotóxico, 3) Auto inmune y 4) Metabólico<sup>7</sup>.

La  $\beta$ -oxidación es la principal vía metabólica que utiliza el corazón para la obtención de energía y la Acetil-CoA representa el producto bioenergético intermedio. Este último apartado ha proporcionado información sobre la depleción de fosfatos de alta energía, de tal forma que la evaluación de las vías metabólicas generadoras de éstos, es indispensable.

Con base en lo anterior, el analizar si el corazón de pacientes con CMD es capaz de aumentar la producción de intermediarios bioenergéticos mediante la adición de substratos unidos a L-carnitina, es de suma importancia en el estudio de las alteraciones bioenergéticas y contráctiles que condicionan esta enfermedad.

La importancia de una investigación de esta naturaleza, radica en intentar brindar información que genere nuevas opciones terapéuticas para estos pacientes, cuyo pronóstico para la vida y función, es desfavorable.

## DEFINICION OPERACIONAL DE LAS VARIABLES

### \* Cardiomiopatía dilatada idiopática.-

La Cardiomiopatía dilatada (CMD) es una entidad nosológica que se caracteriza por dilatación uni o biventricular, crecimiento cardiaco y alteraciones en la función contráctil. Se considera que una fracción de expulsión menor de 0.4 es un parámetro fundamental para el diagnóstico, siempre y cuando se hayan excluido causas desencadenantes específicas como es el caso de las enfermedades del músculo cardiaco (hipertiroidismo, hipotiroidismo, miocarditis aguda) y la cardiopatía isquémica<sup>3-6</sup>.

Se trata de una variable de tipo Categórica Dicotómica. Valor: Presente o ausente

### \* Concentración de Acetil-CoA.-

Intermediario clave en la transformación de todos los nutrientes básicos, que bajo condiciones aeróbicas se forma de la descarboxilación del piruvato, de la oxidación de los ácidos grasos y de los aminoácidos glucogénicos, para ser utilizada por el ciclo de Krebs en la formación de enlaces de alta energía<sup>29,30</sup>. Se midió mediante la técnica descrita por Decker en el tejido miocárdico de pacientes con CMD (apéndice 1). Se trata de una variable de tipo Continua. Valor en Unidades: ng/mg proteína reactante.

\*Material insuficiente de biopsia.-

Se considera la cantidad de tejido menor a 2 mg. La biopsia endomiocárdica proporciona de 1 a 5 mg de tejido habitualmente<sup>31</sup>. Se trata de una variable de tipo Categórica Dicotómica. Valor: Suficiente o insuficiente

\*L-carnitina.-

Ácido orgánico de siete carbonos clasificado como amina cuaternaria, el cual es un cofactor esencial. Su fórmula química es la del ácido  $\beta$ -hidroxi- $\gamma$ -trimetilaminobutírico<sup>29,30</sup>. Se sintetiza principalmente en el hígado y en menor proporción a nivel renal. Sus precursores son los aminoácidos lisina y metionina<sup>25</sup>. Se utilizó en forma sintética, adicionándose en concentración constante a una alícuota de tejido miocárdico para la medición de Acetil-CoA (Apendice1). Se trata de una variable de tipo Continua. Valor: 1.5 mM (mili molar)

\*Ácidos Grasos Saturados ( Ácido Palmítico).-

Lípido compuesto del grupo de los acilglicéridos, constituido por 16 carbonos (hexadecanoico). Adolece de dobles enlaces y es el más abundante en el tejido adiposo del ser humano, después del ácido oleico. Constituye la forma molecular de reserva energética más eficaz<sup>29,30</sup>. Se utilizó en forma sintética, adicionándose en concentración constante a una alícuota de tejido miocárdico para la medición de Acetil-CoA (Apéndice 1). Se trata de una variable de tipo continua  
Valor: 0.08 mM

## MATERIAL Y METODOS

El Universo de trabajo quedó constituido por doce pacientes que acudieron a evaluación por parte de la clínica de Insuficiencia Cardíaca del Hospital de Cardiología del Centro Médico Nacional "Siglo XXI". Este es un Centro Médico de referencia que concentra toda la patología cardiovascular que requiere de complejos procedimientos de diagnóstico y tratamiento, como es el caso de aquellos pacientes que son candidatos a trasplante cardíaco.

A todos los pacientes seleccionados se les efectuó el siguiente protocolo de estudio:

- a) Historia clínica y exploración física completa.
  
- b) Exámenes paraclínicos: biometría hemática completa, química sanguínea, cuantificación de ácido úrico; tiempo de protrombina y tromboplastina; pruebas de funcionamiento hepático como la cuantificación de TGO, TGP DHL, proteínas totales, albúminas, globulinas y bilirrubinas; perfil de lípidos; pruebas de función tiroidea como T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub> y TSH; depuración de creatinina en orina de 24hrs; y prueba de esfuerzo con protocolo de Naughton.
  
- c) Cateterismo cardíaco derecho e izquierdo con coronariografía. con toma de biopsia endomiocárdica del ventrículo derecho (septum interventricular).

## 6. Hiperuricemia

### **Criterios de Exclusión:**

#### 1. Material insuficiente de biopsia cardiaca.

En los criterios de no-inclusión se tomó en cuenta toda aquella patología que pudiera interferir con el metabolismo normal de los lípidos. Por ejemplo, la diabetes al favorecer la activación de glucagón, aumenta los niveles plasmáticos de ácidos grasos libres en el plasma; las alteraciones en la función de la glándula tiroides, interactúan con las hormonas que movilizan los ácidos grasos libres dependientes de AMPc; Finalmente, los estados de insuficiencia renal y hepática, condicionan alteraciones nutricionales capaces de modificar el aporte bioenergético a los tejidos<sup>29,30</sup>.

## METODO

La secuencia de eventos para el análisis y estudio del paciente, consistió en: después del ingreso del paciente al hospital, se llevó a cabo su evaluación y nota de ingreso, haciendo hincapié en la presencia de datos clínicos de insuficiencia cardiaca compensada o descompensada, así como en las características del tratamiento médico recibido. Posteriormente, se realizó la toma de paraclínicos completos, junto con el cruce de sangre, previo al cateterismo cardiaco y la toma de biopsia.

Una vez preparado el paciente en la sala de hemodinámica, se realizó cateterismo cardiaco derecho, con toma de presiones de retiro, desde la presión capilar pulmonar en cuña hasta la vena cava superior. Posteriormente se colocó una camisa Mullins venosa 8 French, con el objeto de introducir el Biotomo (Cordis 7French), para la toma de 4 a 5 biopsias cardiacas del ventrículo derecho (septum interventricular), previa administración venosa con 5,000 Us de heparina. En este sentido, se consideró que el riesgo de complicaciones por la biopsia endomiocárdica es de un rango de 0 a 0.13% en manos experimentadas<sup>31</sup>. Se continuó con el procedimiento rutinario posterior al cateterismo cardiaco. El egreso de los pacientes se decidió en el transcurso de las siguientes 48hrs. La biopsia endomiocárdica de los pacientes con CMD, se llevo a cabo de la siguiente forma:

## Manejo de la Biopsia:

1. Congelamiento inmediato del tejido
2. Mezclar con dos volúmenes de ácido perclórico 0.5 M
3. Homogeneizar tan rápido como sea posible (5 minutos).
4. Neutralizar el exceso ácido con adición de KOH 8M y posteriormente ajustar el pH a 6.3-6.7 con KHCO<sub>3</sub> 1M.
7. Se tomó una alícuota para la determinación de proteínas por el método de Lowry (apéndice 1).
8. Centrifugar a 3000xg /5 minutos y recolectar el sobrenadante el cual se utilizó para la cuantificación de Acetil-CoA (apéndice2).

Una vez efectuado este procedimiento, se tomó una alícuota del sobrenadante para la medición de Acetil-CoA mediante la técnica descrita por Decker<sup>32</sup>, en un sistema de incubación en condiciones basales, y en presencia de ácido palmítico (0.08mM)<sup>20</sup> y L-carnitina (1.5mM)<sup>8,20</sup>. Las concentraciones de estos reactivos se consideraron como fisiológicas según los estudios bioquímicos realizados en la bibliografía universal<sup>8,20</sup>.

## ANALISIS ESTADISTICO

Se realizó una descripción de la información recabada mediante medidas de resumen de tendencia central media y mediana, debido a que la distribución de las variables para algunos casos no fue normal, efectuando una descripción mediante tablas de las características generales de los pacientes. Se efectuó un análisis exploratorio de la variable de intervalo, cuantificación de Acetil-CoA, observándose que su distribución no era normal, por lo que se utilizó la mediana como medida de resumen de tendencia central y de dispersión los percentiles<sup>25-75</sup>. La prueba de rangos de Wilcoxon se utilizó como prueba de hipótesis, debido a que se consideró que la variable dependiente provenía de muestras relacionadas. Así mismo, se establecieron los intervalos de confianza del 95% para esta variable.

Cálculo del tamaño de la Muestra:

Para el cálculo del tamaño de la muestra se utilizó el manual publicado por la OMS<sup>30</sup> para dicho efecto, considerando el cálculo de la diferencia entre dos proporciones de población con precisión absoluta específica. con un valor de alfa del 95% con un poder del 80%. Es decir, comparar la diferencia que existe en la producción bioenergética entre los pacientes sanos y con insuficiencia cardiaca, considerando que la diferencia en la producción de ATP oscila entre un 20 y un 30%. Con base en lo anterior, se obtuvo un cálculo de 16 pacientes para cada grupo, considerando una diferencia con relación a la producción de Acetil-CoA entre ambos grupos de un 30%<sup>12-15</sup>.

## CONSIDERACIONES ETICAS

Los pacientes con Cardiomiopatía dilatada Idiopática fueron sometidos a cateterismo cardiaco, que consistió en la realización de coronariografía y ventriculografía izquierdas, con toma de presiones de cavidades tanto izquierdas como derechas. Este estudio es indispensable para la evaluación integral del paciente y con ello, determinar la etiopatogenia y la posibilidad de considerar al paciente, como eventual candidato a Trasplante de Corazón. Así mismo, no incrementa el riesgo de muerte en comparación con el cateterismo cardiaco, reportándose un riesgo de complicaciones mayores del 0 al 0.13%<sup>31</sup>. La biopsia endomiocárdica además, se realiza invariablemente con el objeto de establecer el diagnóstico y tratar de identificar la etiología del padecimiento.

La realización de los estudios inherentes al protocolo, se efectuaron con previa autorización de los pacientes y/o sus familiares directos, mediante consentimiento informado y siguiendo los lineamientos de la Organización Mundial de la Salud y del CIOMS (Council for International Organizations of Medical Sciences) para la investigación biomédica en seres humanos<sup>34</sup>. El protocolo además, fue aprobado por el Comité Científico y el de Ética del Hospital de Cardiología del Centro Médico Nacional Siglo XXI, del Instituto Mexicano del Seguro Social.

## Hoja de Consentimiento Informado

México D.F de 1998

Acepto participar en el proyecto de Investigación titulado **Acetil-CoA y Bioenergética en la Cardiomiopatía Dilatada** y registrado ante el Comité Local de Investigación con el número \_\_\_\_\_

El objetivo de este estudio es evaluar la producción miocárdica de Acetil-CoA en pacientes con Cardiomiopatía dilatada. Se me ha explicado que mi participación consistirá en la *obtención de tejido miocárdico para la cuantificación de Acetil-CoA mediante biopsia endomiocárdica*. Declaro que se me ha informado ampliamente sobre los riesgos, inconvenientes, molestias y beneficios derivados de mi participación en el estudio, que son los siguientes: *Se efectuará biopsia endomiocárdica cuyo riesgo de complicaciones severas es menor del 1% y que la información obtenida tiene como principal objetivo, mejorar el tratamiento de la enfermedad que yo padezco, en un futuro, no necesariamente inmediato*. El Investigador principal se ha comprometido a darme información oportuna sobre cualquier procedimiento alternativo que pudiera ser ventajoso para mi tratamiento, así como responder a cualquier pregunta y aclarar cualquier duda que le plantee acerca de los procedimientos que se llevarán a cabo, los riesgos, los beneficios o cualquier otro asunto relacionado con esta investigación o con mi tratamiento. Entiendo que conservo el derecho de retirarme del estudio en cualquier momento que lo considere conveniente, sin que ello afecte la atención médica que recibo del Instituto.

El Investigador principal me ha dado la seguridad de que no se me identificará en las presentaciones o publicaciones que deriven de este estudio y que los datos relacionados con mi privacidad, serán manejados en forma confidencial. También se ha comprometido a proporcionarme la información actualizada que se obtenga durante el estudio, aunque esta pudiera hacerme cambiar de parecer respecto a mi presencia en el mismo. Finalmente, estoy enterado de que este protocolo cumple con los lineamientos que sobre investigación médica establece la Ley General de Salud en los artículos del 100 al 103.

\_\_\_\_\_  
Nombre y Firma del paciente

\_\_\_\_\_  
Firma Investigador

\_\_\_\_\_  
Testigo

\_\_\_\_\_  
Testigo

## RESULTADOS

Doce pacientes portadores de Cardiomiopatía dilatada Idiopática fueron estudiados. Ocho hombres y cuatro mujeres con edad promedio de  $37.4 \pm 15.3$  años, en clase funcional I (33%) y II (67%) de la Asociación del Corazón de Nueva York. El promedio de la fracción de expulsión del ventrículo izquierdo fue de  $0.21 \pm 0.07$  (tabla1). Digoxina, captopril, furosemide y anticoagulación constituyeron el tratamiento de base de los pacientes. Ninguno de ellos presentó complicaciones posteriores al procedimiento. Hasta la fecha, solo ha fallecido un paciente, como consecuencia de descompensación aguda de la insuficiencia cardiaca con que cursaba con anterioridad.

La cuantificación basal in Vitro de Acetil-CoA del tejido miocárdico obtenido mediante biopsia endomiocárdica, tuvo una distribución no normal. La mediana fue de 7.13 ng/mg de proteína con un percentil <sup>25-75</sup> de 2.5-17.85 ng/mg de proteína reactante. La medición efectuada en un medio enriquecido con ácido palmítico (0.08mM) y L-carnitina (1.5mM) tuvo una distribución no normal. La mediana fue de 111.5 ng/mg de proteína reactante con un percentil <sup>25-75</sup> de 40.75-309.75 ng/mg de proteína (tabla2).

Es necesario mencionar que cuando se agrego al medio exclusivamente ácido palmítico o L-carnitina, los niveles de producción de Acetil CoA no sé modificaron.

## DISCUSIÓN

El estudio de la Cardiomiopatía dilatada idiopática se ha enfocado en cuatro vertientes que involucran tanto aspectos genéticos, como infecciosos, autoinmunes y energético-contráctiles<sup>7</sup>. En este último apartado se ha demostrado, a través de estudios con resonancia magnética nuclear, que el corazón de los pacientes con CMD presenta una disminución en la producción de ATP, el cual se cuantificó por métodos directos y mediante la determinación de la relación fosfocreatina : adenosintrifosfato, en muestras de tejido obtenido mediante biopsia endomiocárdica<sup>14-17</sup>. Schaefer sin embargo, utilizando la misma tecnología, no encontró una diferencia significativa<sup>18</sup>. Las alteraciones bioenergéticas por si mismas, no explican por completo los trastornos que sufre la función cardíaca en la CMD. De hecho, aún cuando la cantidad total de fosfatos de alta energía sea normal, la deficiencia bioenergética puede persistir<sup>7</sup>.

En este estudio, se encontró que el tejido miocárdico obtenido de corazones con CMD, incrementaba en forma significativa la producción de Acetil-CoA ( $p=0.002$ ) cuando se agregaba al medio ácido palmítico y L-carnitina. Este hallazgo, nos permite sustentar que la  $\beta$ -oxidación en tejido miocárdico anormal (CMD), es una vía metabólica susceptible de incrementar la producción de intermediarios bioenergéticos, cuando se estimula mediante la administración del sustrato específico y su transportador.

— Por el momento, desconocemos si esta sobreproducción de Acetil-CoA, facilita o incrementa también la producción de ATP. Considerando las hipótesis en competencia que se generaron de nuestros hallazgos, parece ser que la vía metabólica de la  $\beta$ -oxidación funciona en forma normal dentro del tejido miocárdico con CMD. Si esto es así, entonces la alteración que desencadena la disminución en la producción de ATP, puede gestarse a dos niveles: 1) la membrana protoplasmática y 2) la membrana mitocondrial interna.

Con respecto al primer nivel, se ha descrito que la L-carnitina condiciona un efecto estabilizador sobre las membranas celulares y los canales iónicos<sup>36</sup>. Ante estas circunstancias, el incremento en la concentración de L-carnitina en un sistema in-Vitro, puede favorecer por si mismo, la utilización de sustrato y con ello, la función bioenergética. Este mismo concepto, puede aplicarse a la función de la membrana mitocondrial interna. A pesar de esta evidencia, Opie ha reportado una disminución de la utilización de ácidos grasos en la insuficiencia cardiaca hasta del 17%, por lo que aparentemente el déficit bioenergético puede ser secundario a los mecanismos de transporte protoplasmáticos.

Con relación a la función de la membrana mitocondrial interna, es necesario mencionar que los mecanismos de daño miocárdico modifican las constantes de reacción enzimática, especialmente la constante de Michaelis-Menten.

Scheuer, considera que en la CMD la transferencia de unidades de fosfato de alta energía de la mitocondria al citoplasma, puede ser inadecuada<sup>7</sup>. Por lo que podemos aceptar que uno de los principales problemas bioenergéticos que presenta este tipo de fibras miocárdicas, podría estar relacionado con alteraciones en la función de la membrana mitocondrial interna, provocando trastornos en el transporte de los protones generados en la fosforilación oxidativa. Lo anterior, repercutiría indudablemente sobre la síntesis de ATP y desde luego, sobre la estabilidad del pH intramitocondrial. Ahora bien, si la expresión fenotípica de genes anormales altera las características de la estructura cuaternaria de las proteínas que conforman la fibra miocárdica, así como la estructura de diversos sistemas enzimáticos produciendo las alteraciones que conocemos como CMD, es posible también, que estos mismos genes, al influenciar las características fenotípicas de la membrana mitocondrial interna, alteren su función.

Linzbach hace ya casi 4 décadas, consideró que en esencia, la insuficiencia miocárdica es resultado de la discrepancia entre la cantidad de energía necesaria para expeler un volumen de sangre y la cantidad de energía disponible. Es decir, en la insuficiencia miocárdica, la célula contráctil por unidad de peso, produce una cantidad normal de energía que es liberada en cada contracción, pero que es inadecuada para expulsar un volumen sanguíneo normal, desde un ventrículo dilatado<sup>35</sup>.

Estas alteraciones en la función cardíaca, pueden provocar modificaciones específicas en la capacidad de las vías bioenergéticas para producir ATP. Es decir, que las alteraciones que sufre la estructura cuaternaria de las proteínas miocárdicas, pueden repercutir sobre la función de la mitocondria y de otros organelos.

Es por esto, que al aceptar que el incremento de los intermediarios bioenergéticos en el tejido miocárdico con CMD puede mejorar su actividad metabólica, aceptamos también, que es imperativo el estudio detallado de la función de la membrana mitocondrial interna y del transporte de protones dentro de la misma, así como el estudio de la función de la membrana protoplasmática en el ingreso de sustrato específico para la generación de energía. De hecho, si en un futuro logramos equilibrar la función de ambas membranas, desde un punto de vista teórico, sería posible revertir en un momento dado, el estímulo epigenético que desencadenó la enfermedad.

Con base en lo anterior, consideramos que el desarrollo etiopatogénico de la CMD, está directamente relacionado con la actividad de las membranas protoplasmática y mitocondrial, involucrando posiblemente factores genéticos, los cuales pueden presentarse desde el momento mismo de la gestación, pero que se manifiesta hasta después del nacimiento.

## BIBLIOGRAFIA

1. Figulla H, Kandolf R. Idiopathic dilated cardiomyopathy. Berlin: Springer Verlag 1993.
2. Braunwald E. The Cardiomyopathies and Myocarditides. In Braunwald E. Heart Disease. Fifth ed. Philadelphia: Saunders, 1997: 1404-1414.
3. Caforio ALP, Stewart JT, McKenna WJ. Idiopathic dilated cardiomyopathy. Rational treatment awaits better understanding of pathogenesis. Br Med J 1990; 300:890-891.
4. Richardson P, McKenna W, Bristow M, Maisch B, Mautner B, O'Connell J. Report of the 1995 WHO/ISFC task force on the definition and classification of cardiomyopathies. Circulation 1996; 93:841-842.
5. Howard JF, Archard L, Richardson P. Dilated cardiomyopathy-new insights into the pathogenesis. Postgrad Med J 1994; 70(Suppl 1):S2-S7.
6. Dec W, Fuster V. Idiopathic dilated cardiomyopathy. N Eng J Med 1994; 331:1564-1575.
7. Scheuer J. Metabolic factors in Myocardial failure. Circulation 1993; 87(suppl VII):54-57.
8. Neely JR, Rovetto MJ, Oram JF. Myocardial utilization of carbohydrate and lipids. Prog Cardiovasc Dis 1972; 15:289-329.
9. Opie L.H. Metabolism of the heart in health and disease. Part II. Am Heart J 1969; 77:100-122.

10. Peters TJ, Wells G, Oakley CM, Brooksby AB, Jenkins BS, Webb-Peploe MM. Enzymatic analysis of endomyocardial biopsy specimens from patients with cardiomyopathies. *Br Heart J* 1977; 39:1333-1339.
11. Ingwall J. Is cardiac failure a consequence of decreased energy reserve? *Circulation* 1993; 87(suppl VII):58-62.
12. Tanner HA. Bioenergetics in the pathogenesis, progression and treatment of cardiovascular disorders. *Medical Hypothesis* 1995; 44:347-358.
13. Knoebel SB. Changing strategies in management of heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1989; 13:513-523.
14. Bashore TM, Magorien DJ, Letterio J, Shaffer P, Unverferth DV. Histological and biochemical correlates of left ventricular chamber dynamics in man. *J Am Coll Cardiol* 1987; 9:734-742.
15. Hardy C, Weiss R. Altered myocardial high-energy phosphate metabolites in patients with dilated Cardiomyopathy. *Am Heart J* 1991; 122:795-801.
16. McDonald KM, Yoshiyama M, Francis GS, Ugurbil K, Cohn JN, Zhang J. Myocardial bioenergetics abnormalities in a canine model of left ventricular dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 1994; 23:786-793.
17. Neubauer S, Krahe T, Schindler R, Horn M, Hillenbrand H, Entzeroth C. <sup>31</sup>P Magnetic resonance spectroscopy in dilated cardiomyopathy and coronary artery disease. *Circulation* 1992; 86:1810-1818.
18. Schaefer S, Guber JR, Schwartz GG, Twieg DB, Weiner MW, Massie B. In Vivo phosphorus -31 spectroscopic imaging in patients with global myocardial disease. *Am J Cardiol* 1990; 65:1154-1161.

19. Whitmer JT. L-Carnitine treatment improves cardiac performance and restores high-energy phosphate pools in Cardiomyopathic Syrian Hamster. *Circ Res* 1987; 61:396-408.
20. Opie LH. Role of carnitine in fatty acid metabolism of normal and ischemic myocardium. *Am Heart J* 1979; 97:375-388.
21. Regitz V, Leo Shug A, Fleck E. Defective myocardial carnitine metabolism in congestive heart failure secondary to dilated cardiomyopathy and to coronary, hypertensive and valvular heart failure. *Am J Cardiol* 1990; 65:755-760.
22. Hernández A, Pallares V, Cosín J, Andrés F, Capdevila C, Portoles M. Efectos de L-carnitina sobre la función regional del miocardio aturdido por isquemias de muy breve duración. *Rev Esp Cardiol* 1997; 50(9):650-657.
23. Kobayashi A, Masumura T. L-carnitine treatment for congestive heart failure: experimental and clinical study. *Jpn Circ J* 1992; 56:86-94.
24. Marjorie ET, Shug AL. Carnitine and congestive cardiomyopathy of childhood. *J Am Coll Cardiol* 1983; 1(2):724.
25. Arsenian MA. Carnitine and its derivatives in cardiovascular disease. *Prog Cardiovasc Dis* 1997; 40(3): 265-286.
26. Burch M, Runciman M. Dilated Cardiomyopathy. *Arch Dis Child* 1996; 74(6) :479-481.
27. Caponnetto S, Canale C, Masperone MA, Terrachini V, Valentini G, Brunelli C. Efficacy of L-propionycarnitine treatment in patients con left ventricular dysfunction. *Eur Heart J* 1994; 15:1267-1273.

28. Löster H, Miehle K, Punzel M. Prolonged oral L-carnitine substitution increases bicycle ergometer performance in patients with severe, ischemically induced cardiac insufficiency. *Cardiovasc Drugs Ther* 1999; 13(6):537-546.
29. Musil. Acetyl-CoA, the citric acid cycle in Biochemistry In Musil. Schematic Perspective Prague Czechoslovak: Avicenum, 1977:103-107.
30. Herrera. Vitaminas hidrosolubles y enzimas In Herrera. Bioquímica Vol. 1 España: McGraw Hill, 1994: 175-176.
31. Fowles. The Future of Cardiac Biopsy in Cardiac Biopsy. Mount Kisco N.Y: Futura Publ. Co. Inc, 1992: 191-194.
32. Bergmeyer H. U. Nucleotides, Coenzymes and related compounds. In *Methods of Enzymatic Analysis*. Berlin: Weinheim Bergstr. Academic press, 1994: 186-193.
33. Lwanga SK, Lemeshow S. Determinación del tamaño de la muestra en los estudios sanitarios. Geneve: Organización Mundial de la Salud, 1991.
34. Council for International Organizations of Medical Sciences (CIOMS) in collaboration with the World Health Organization (WHO). Geneve: WHO 1993.
35. Francis GS, Heart Failure. *J Am Coll Cardiol* 1999; 33(2):291-294.
36. Fritz IB, Arrigoni-Martelli E. Sites of action of carnitine and its derivatives on the cardiovascular system: interactions with membranes *Trends in Pharmacol Sci* 1993; 14: 355-360

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Tabla 1

Paciente	Género	Edad en años	Clase Funcional de la NYHA	Fracción de Expulsión del VI
1	Masculino	48	1	.20
2	Masculino	30	2	.30
3	Masculino	37	2	.31
4	Femenino	30	2	.30
5	Masculino	35	1	.18
6	Masculino	11	2	.18
7	Femenino	48	2	.12
8	Masculino	39	2	.15
9	Masculino	55	1	.25
10	Femenino	52	1	.18
11	Masculino	54	2	.30
12	Femenino	10	2	.14

Características generales de los pacientes con Cardiomiopatía Dilatada Idiopática

Tabla 2

Paciente	Acetil-CoA Basal *	Acetil-CoA con Ácido palmítico + L-carnitina *
1	11.40	81.00
2	19.00	65.00
3	5.27	37.00
4	61.00	142.00
5	14.40	500.00
6	9.00	347.00
7	37.00	554.00
8	1.20	52.00
9	4.00	188.00
10	4.05	198.00
11	2.01	3.40
12	2.00	8.00
Mediana	7.13	111.5
percentila <sup>25-75</sup>	2.5-17.85	40.75-309.75

Prueba de Wilcoxon  
p= 0.002

Mediciones in Vitro básicas y bajo la influencia de ácido palmítico con L-carnitina del tejido miocárdico con Cardiomiopatía Dilatada Idiopática

\* Unidades: ng/mg proteína

## APENDICE 1

Método de Lowry:

Reactivos:

Solución A: Tartrato de sodio al 0.02%,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 2% en NaOH 0.1M.

Solución B:  $\text{CuSO}_4$  al 0.5% en agua destilada.

Solución C: 50ml de la solución A + 1 ml de la solución B (se prepara al momento de usar).

Solución D: 1.1ml de reactivo de Folín ciocaltecau + 1.4 ml agua destilada (Se prepara al momento de usar).

Solución estándar: Albúmina bovina al 30% (sigma) a una concentración final de 0.3mg/ml en agua destilada.

Curva estándar:

La curva estándar de proteínas se efectúa siguiendo la metodología descrita a continuación:

	$\mu\text{g}$	ml	ml	ml	ml
Tubo	Albúmina	Sol	$\text{H}_2\text{O}$	Sol. C	Sol. D
0	0	0	0.5	2.0 incubar	0.2 incubar
1	30	0.1	0.4	2.0 10 min	0.2 20 min
2	60	0.2	0.3	2.0 25°C	0.2 25°C
3	90	0.3	0.2	2.0	0.2
4	120	0.4	0.1	2.0	0.2
5	150	0.5	0	2.0	0.2

Se utilizaron concentraciones de 0 a 150  $\mu\text{g}$  de albúmina.

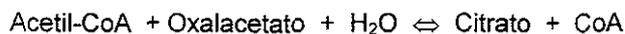
## APENDICE 2

Determinación de Acetil-CoA:

Se han desarrollado diversos métodos para la cuantificación de Acetil-CoA, sin embargo, al momento el método más utilizado por su alta especificidad y fácil realización es el descrito por Decker<sup>29</sup>.

Este método se basa en la formación de citrato a partir de Acetil-CoA y oxalacetato por la enzima citrosintasa en un sistema de reacciones acopladas usando malato deshidrogenasa.

El incremento en la absorbancia a 339 nm se debe a la formación de NADH de acuerdo a la ecuación:



La molécula de Acetil-CoA es cuantitativamente convertida a citrato bajo las condiciones mencionadas. Sin embargo, la formación de NADH + H<sup>+</sup> no es proporcionalmente lineal a la concentración de Acetil-CoA, razón por la cual Buckel & Eggerer, Pearson, Bergmeyer y Mollering proporcionaron el soporte teórico para el cálculo. Siendo el rango óptimo de la concentración de Acetil-CoA en el sistema descrito de 10 a 200 nmol<sup>24</sup>.

Sistema de Incubación:

Amortiguador fosfatos	425 µl	0.2 M
Muestra	25 µl	
NAD	25 µl	1.5 mmol/L
Mezclar, leer la absorbancia una vez que se estabilice ( $A_0$ )		
Malato deshidrogenasa (MDH)	25 µl	900 U/L
Mezclar, medir la absorbancia hasta que sea constante ( $A_1$ ) $\Delta A_1 = A_1 - A_0$		
Citrato sintasa (CS)	5 µl	75 U/L
Leer $A_2$ una vez estable la reacción $\Delta A_2 = A_2 - A_1$		

Para calcular la concentración de Acetil-CoA se utilizara la fórmula:

$$\Delta A = \Delta A_2 (1 + \Delta A_1 / \Delta A_1 + \Delta A_2)$$

HOJAS DE RECOLECCION DE DATOS

NOMBRE	SEXO	M	EDAD	FILIACION
		F		
DIAGNOSTICO	N.Y.H.A.		FECHA:	

FACTOR	SI	NO	FACTOR	SÍ	NO
D.M.			HIPERURICEMIA		
EUTIROIDISMO			INSUFICIENCIA HEPATICA		
INSUFICIENCIA RENAL			DISLIPIDEMIAS		
ATEROSCLEROSIS CORONARIA			BIOPSIA INSUFICIENTE		

NOMBRE	SEXO	M	EDAD	FILIACION
		F		
DIAGNOSTICO	N.Y.H.A.		FECHA	

TEJIDO CON CARDIOMIOPATIA DILATADA IDIOPÁTICA				
Sin L-carnitina		R	Con L-carnitina	
VARIABLE			VARIABLE	
B-Oxidación			B-Oxidación	
	Concentración de Acetil-CoA			Concentración de Acetil-CoA