

112361
T.9



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI
HOSPITAL DE CARDIOLOGIA

DETERMINACION DE LA CONCENTRACION DE
METABOLITOS DEL OXIDO NITRICO EN
PACIENTES CON DAÑO MIOCARDICO

TESIS DE POSGRADO
PARA OBTENER EL GRADO DE:
ESPECIALISTA EN PATOLOGIA CLINICA
P R E S E N T A :

DRA. AZUCENA ZITLALI RUIZ PETATAN



ASESORES: DR. MARTIN HORACIO GARRIDO GARDUÑO
DR. RENE ROSILES MARTINEZ
DRA. ROSA MA. GARCIA ESCAMILLA

MEXICO, D. F.

OCTUBRE AÑO 2002

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



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.

9

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI
HOSPITAL DE CARDIOLOGÍA**

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
SUBDIVISIÓN DE ESPECIALIDADES MÉDICAS**

**DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE METABOLITOS DEL ÓXIDO
NÍTRICO EN PACIENTES CON DAÑO MIOCÁRDICO**

T E S I S

Para obtener el grado de especialista en Patología Clínica

Presenta:

Dra. Azucena Zítlali Ruíz Petatán

Asesores:

Dr. Martín Horacio Garrido Garduño

Dr. René Rosiles Martínez

Dra. Rosa Ma. García Escamilla

**"Determinación de la concentración de metabolitos del óxido nítrico en
pacientes con daño miocárdico"**

Vo. Bo.

Dr. Rubén Argüero Sánchez.

Director.

Hospital de Cardiología del Centro Médico Nacional Siglo XXI. IMSS

Vo. Bo.

Dr. Juan Carlos Necochea Alva.

Jefe de la División de Educación Médica e Investigación.

Hospital de Cardiología del Centro Médico Nacional Siglo XXI. IMSS



HOSP. DE CARDIOLOGIA
C.M.N. SIGLO XXI
DIV. DE ENSEÑANZA E
INVESTIGACION

Vo. Bo.

Dr. Alonso Peña González.

Subjefe de la división de Educación Médica e Investigación.

Hospital de Cardiología del Centro Médico Nacional Siglo XXI. IMSS



HOSP. DE CARDIOLOGIA
C.M.N. SIGLO XXI
DIV. DE ENSEÑANZA E
INVESTIGACION

Vo. Bo.

Dra. Rosa Ma. García Escamilla.

Profesor Titular del curso de posgrado de Patología Clínica.

Hospital de Cardiología del Centro Médico Nacional Siglo XXI. IMSS



SUBDIVISION
DIVISION DE ENSEÑANZA E
INVESTIGACION

FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**TESIS CON
BATA DE ORIGEN**

Vo. Bo.

Dr. Martín Horacio Garrido Garduño

Clínica de Insuficiencia Cardíaca

Hospital de Cardiología del Centro Médico Nacional Siglo XXI. IMSS

Vo. Bo.

Dr. René Rosiles Martínez

Jefe del Laboratorio de Investigación en Toxicología de la Facultad de Medicina
Veterinaria y Zootecnia.

Universidad Nacional Autónoma de México.

DEDICATORIAS

A Miguel Ángel,

*Mi amante esposo, mi querido amigo, mi cómplice en el delito, sin ti este sueño
hubiese continuado siendo una luz débil en una mirada fatigada.*

A mi madre y a mi padre,

*Pilares de mi existencia, con ustedes dedicándome sus pensamientos y apoyo,
esta obra es ya una realidad.*

A mi hermano,

Por haber soportado a su hermana mayor

RECONOCIMIENTOS

La buena voluntad y generosa cooperación de un gran número de personas aportó mucho a la realización de ésta Tesis.

En particular, le estoy muy agradecida a el Dr. Martín H. Garrido Garduño, no solo por su inteligente perspicacia y continuo apoyo para cristalizar este trabajo, sino también por su dedicación y tiempo. De igual modo le agradezco su ayuda a el Dr. René Rosiles Martínez y a el Dr. Janitzio Bautista Ordoñez, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia porque colaboraron importantemente con gran paciencia y dedicación en el procesamiento de las muestras de los pacientes en estudio. Quisiera agradecer particularmente a la Dra. Rosa Ma. García Escamilla, profesor titular del curso de posgrado de Patología Clínica, ya que siempre estuvo al pendiente de los avances del estudio, por conseguirme el material necesario para la ejecución del mismo y aportar, es éste manuscrito, su gran experiencia y cuidado.

Un gran número de gente puso a mi disposición su tiempo y experiencia como el Dr. José Antonio Magaña Serrano, Dr. Roberto Arriaga Nava, la QFI Ma. Dolores Martínez Benitez y la QFB Marta Olivia Tejero González. Todas estas personas no escatimaron ningún esfuerzo para ayudarme hacia la culminación de la Tesis.

Y de manera muy especial al Instituto Mexicano del Seguro Social y a la Universidad Nacional Autónoma de México por el apoyo que se me otorgó, para lograr ver consolidado este proyecto.

INDICE

1. Datos de identificación	5
2. Resumen	7
3. Introducción	
Objetivo general y específicos	8
Marco teórico	9
Planteamiento del problema	16
Hipótesis	17
Definición de variables	19
4. Material y métodos	23
5. Resultados	29
6. Discusión	42
7. Conclusiones	46
8. Referencias bibliográficas	47
9. Anexos	52

DATOS DE IDENTIFICACIÓN

DE LA INVESTIGACIÓN:

- **Título:** Determinación de la concentración de los metabolitos del óxido nítrico en pacientes con daño miocárdico.
- **Número de registro:** 051702/18 otorgado por el Comité Científico de la Unidad de Investigación en Cardiología del Hospital de Cardiología del Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS.

DE LOS INVESTIGADORES:

- **Investigador:**

Dra. Azucena Zitlali Ruíz Petatán. Residente 3 de Patología Clínica del Hospital de Cardiología del Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS. Av. Cuauhtémoc No. 303, Col Doctores. Delegación Cuauhtémoc, México, D.F. Tel. 56-27-69-00, ext. 2088.

E-mail: zitlali2001@hotmail.com

- **Director de Tesis:**

Dr. Martín Horacio Garrido Garduño. Médico en Cardiología y Hemodinamia del Hospital de Cardiología del Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS. Av. Cuauhtémoc No. 303, Col Doctores. Delegación Cuauhtémoc, México, D.F. Tel. 56-27-69-00, ext.

E-mail: [martín_garrido@infosal.net.mx](mailto:martin_garrido@infosal.net.mx)

- **Director de Tesis:**

Dr. René Rosiles Martínez. Médico Veterinario y Zootecnia.
Sistema Nacional de Investigadores. Facultad de Veterinaria y
Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México.
Tel. 56-22-58-79. E-mail: rosiles@servidor.unam.mx

- **Director de Tesis:**

Dra. Rosa María García Escamilla. Patología Clínica.
Profesor Titular de la Especialidad de Patología Clínica en el Instituto
Mexicano del Seguro Social, con Sede en el Hospital de Cardiología
del Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS. Av. Cuauhtémoc
No. 303, Col Doctores. Delegación Cuauhtémoc, México, D.F.
Tel. 56-27-69-00, ext. 2088. Jefe del servicio de Transfusiones del
Mismo hospital. Actual Presidente de la Asociación Mexicana de
Patología Clínica. Av. Coyoacán No. 1878, Col. Del Valle, Delegación
Benito Juárez, México, D. F.
E-mail: romaescamilla@latinmail.com

DE LA INSTITUCIÓN:

Hospital de Cardiología del Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS.
Av. Cuauhtémoc No. 303, Col Doctores. Delegación Cuauhtémoc,
México, D. F.

RESUMEN

En informes previos se ha estudiado la asociación entre las concentraciones de óxido nítrico endógeno y el grado de daño miocárdico, así, en el presente trabajo se determinó una variante de esta correlación. Es un estudio de tipo observacional y transversal analítico, donde se calculó un tamaño de muestra de 54 pacientes de la Clínica de Insuficiencia Cardíaca del Hospital de Cardiología del Centro Médico Nacional Siglo XXI, con daño miocárdico por cardiomiopatía dilatada de causa isquémica y no isquémica, y con una FEVI menor del 40%. Para la determinación de nitritos séricos y metahemoglobina, las muestras se procesaron en el Laboratorio de Investigación en Toxicología de la Facultad de Veterinaria y Zootecnia de la UNAM. La comparación de los dos grupos de estudio se realizó mediante la "u" de Mann-Whitney y la correlación mediante "r" de Pearson, con un nivel de significancia $p < 0.05$. De un total de 59 pacientes, los niveles de nitritos séricos resultaron significativamente mayores en el grupo de CMD que en CI ($p=0.0001$) pero sin correlación entre los niveles de nitritos séricos con la FEVI ($r=0.09$ y 0.02). Sin embargo, al comprar los nitritos séricos con la presencia o no de falla ventricular derecha, encontramos una importante diferencia ($p=0.035$). De ésta manera, concluimos que los niveles de óxido nítrico son mayores en los pacientes con CMD por un proceso inflamatorio crónico y de disfunción endotelial, lo cual se correlaciona con un mayor daño miocárdico del ventrículo derecho indicando grados más avanzados de la enfermedad.

Palabras clave: óxido nítrico, cardiomiopatía dilatada.

INTRODUCCION

OBJETIVO GENERAL:

Analizar la concentración sérica de nitritos y metahemoglobina en pacientes con daño miocárdico de etiología isquémica y no isquémica con una fracción de expulsión menor al 40 %.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- 1) Determinar la concentración sérica de nitritos y metahemoglobina en pacientes con daño miocárdico
- 2) Comparar los niveles de nitritos y metahemoglobina en dos grupos de pacientes con daño miocárdico, de etiología isquémica y no isquémica.
- 3) Correlacionar las concentraciones nitritos y metahemoglobina con el grado de daño miocárdico (fracción de expulsión del ventrículo izquierdo <40%) de etiología isquémica y no isquémica.

MARCO TEORICO

La cardiomiopatía dilatada (CMD) es un síndrome caracterizado por una dilatación cardíaca y una disfunción contráctil de uno o ambos ventrículos, con desarrollo hacia insuficiencia cardíaca congestiva. ⁽¹⁾ La incidencia de la CMD informa en cinco a ocho casos por 100,000 habitantes por año, ⁽²⁾ con una ocurrencia de tres veces mayor en raza negra y del sexo masculino que en raza blanca y del sexo femenino; la supervivencia en raza negra es de peor pronóstico que en raza blanca, de esta manera, solo una cuarta parte de los pacientes considerados para trasplante cardíaco mejoran espontáneamente. ⁽³⁾ Más del 75% de los casos produce manifestaciones de CMD, lo cual representa la vía final común del daño miocárdico producido por mecanismos citotóxicos, metabólicos, inmunológicos, infecciosos, familiares y genéticos. ⁽⁴⁾ La transmisión familiar es heterogénea, varios casos han demostrado una transmisión autosómico dominante, recesiva y herencia ligada al cromosoma X. ⁽⁵⁾ La miocarditis viral subclínica culmina en el desarrollo de CMD en 15% de los casos, con evidencia de títulos altos de anticuerpos. ⁽⁶⁾ Se ha asociado con HLA DR4 y DQw4 ⁽⁷⁾ y se han sugerido alteraciones endocrinas, efectos de las toxinas, hiperreactividad microvascular (espasmo) conduciendo a necrosis miocelular con insuficiencia cardíaca resultante. ⁽⁸⁾ Las causas más importantes de CMD secundaria incluyen abuso por alcohol o cocaína, virus de inmunodeficiencia humana, anormalidades metabólicas y cardiotoxicidad por drogas contra el cáncer. ⁽⁹⁾ En lista de espera de trasplante cardíaco del Hospital de Cardiología del Centro médico Nacional Siglo XXI, IMSS, entre las que se mencionan 67 pacientes con CMD cuya tasa de defunción fue del

53%. ⁽¹⁰⁾ El óxido nítrico (NO) es un radical libre (que tiene un electrón impar) altamente reactivo, con una vida media de pocos segundos ya que puede combinarse con otros radicales libres o descomponerse rápidamente en nitritos y nitratos, su reacción es catalizada por hierro. La hemoglobina inactiva el NO por unión a la forma de nitrosamina, resultando en la formación de metahemoglobina. La óxido nítrico sintetasa cataliza la síntesis de óxido nítrico de L-arginina y oxígeno molecular, la L-citrulina es el subproducto y el ON producido inhibe su actividad. (Figura 1) ⁽¹¹⁾

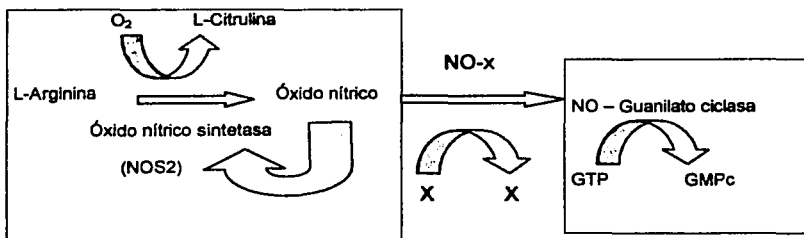


Figura 1.

La vida media de nitratos es de 3.8 horas, cuya evidencia es indirecta de la producción de NO en plasma. ⁽¹²⁾ Los efectos fisiológicos son producidos después de que el NO se une a la porción heme de la Hb, activando a la guanilato ciclasa producir guanosin monofosfato cíclico (GMPc), cuyo incremento causa una reducción en la concentración intracelular del calcio, el cual es responsable para la relajación del músculo liso y cardíaco. Los efectos fisiológicos son producidos después de la unión del óxido nítrico a la guanilato ciclasa soluble, induciendo su activación, para convertir el guanosin trifosfato (GTP) en guanosin monofosfato

cíclico (GMPc), lo cual inhibe la fosfodiesterasa 3 (PDE3) aumentando el adenosín monofosfato cíclico (AMPc) y la activación de la canales tipo-L de calcio, lo cual incrementa el calcio intracelular produciendo un efecto inotrópico positivo. De este modo, la producción endógena del óxido nítrico juega un papel significativo en la función sistólica. ^(13, 45) Se han identificado tres isoformas de NOS: un tipo endotelial, un tipo neuronal, y un tipo macrófago o inducible. Localizados en los cromosomas 7 (tipo endotelial, eNOS, NOS3), 12 (tipo neuronal, nNOS, NOS1), y 17 (tipo macrófago, iNOS, NOS2). La NOS2 o tipo macrófago no se ha encontrado en sanos, pero se expresa después de la activación de células debido a infección o por mediadores inflamatorios como el factor de necrosis tumoral gamma (FNT gamma) o interleucina-1 alfa (IL-1 alfa). NOS2 es una enzima inducible, que produce grandes cantidades de óxido nítrico (NO) a diferencia de las otras isoformas. La vida media se calcula entre 0.1 y 5 segundos en sistemas fisiológicos. La NOS2 ha sido detectado in vivo e in vitro en endocardio, endotelio, células inflamatoria (macrófagos), músculo liso vascular, fibroblastos, endotelio microvascular y miocitos cardiacos. ⁽¹⁴⁾ Así, en 1996, se demostró que músculo ventricular de rata, previamente tratadas con IL-1 y 6, FNT alfa e interferón gamma, presentaban un aumento en la actividad enzimática de NOS en la producción de nitritos y nitratos. En estudios previos se ha establecido que constituyentes celulares de la célula endotelial y del músculo liso de la microvasculatura cardiaca y macrófagos tisulares son capaces de producir óxido nítrico en respuesta a citoquinas específicas, tales como FNT α , IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, CSF-GM y FN-kB; en la que se produce un proceso inflamatorio crónico de la

insuficiencia cardíaca, modulación de la función cardíaca, inducción de la transducción de genes para una mayor producción de citoquinas, moléculas de adhesión, activación anormal de linfocitos T y finalmente, por el aumento de la expresión de la enzima inducible de la óxido nítrico sintetasa (NOS2) en el miocardio humano, promoviendo un deterioro hemodinámico de la función cardíaca en la CMD. ^(14, 38, 45) La producción de NO puede ser aumentada por varios mecanismos: acetilcolina, bradiquinina, 5-hidroxitriptamina, sustancia P e hipoxia, a través de la unión a receptores endotelina-1B situados en la célula endotelial produciendo vasodilatación. La habilidad del endotelio de producir NO es atenuado en la insuficiencia cardíaca. La disfunción endotelial origina un aumento de angiotensina II y catecolaminas. De éste modo, éste sistema neurohormonal inhibe la producción de bradiquinina y aumenta la de NO. ^(15, 46) Informes recientes en humanos con trasplante alogénico de corazón indican un aumento en la expresión de NOS2 y por lo tanto, de nitratos y nitritos. ⁽¹⁶⁾ Se encontró una mayor evidencia de disfunción ventricular, determinada por ecocardiografía, en pacientes con expresión de NOS2 en biopsia de miocardio, así, la inducción de NOS2 en el corazón puede ser deletérea hacia una disfunción generalizada del miocardio. ⁽¹⁷⁾ El gen codifica NOS2 mediante una proteína de 130 kDa que se une a la calmodulina cuando los niveles de calcio intracelular son bajos. ⁽¹⁸⁾ Recientemente, se comprobó el efecto de la edad sobre la vía NO-cGMP cardíaco, ⁽¹⁹⁾ el NO promueve la relajación ventricular asociada con un envejecimiento normal. ⁽²⁰⁾ La producción incrementada de NO correlaciona el incremento de niveles del NOx plasmático en animales viejos. ⁽²¹⁾ Los niveles plasmáticos de nitratos son significativamente incrementados en pacientes con

insuficiencia cardíaca crónica, ⁽²²⁾ para lo cual, se demostró que hay una correlación inversa entre la fracción de eyección y los niveles de NOx miocárdico, influenciada por la síntesis, degradación y depuración de los metabolitos del NO. ⁽²³⁾ Se realizó un estudio donde el aumento en el nitrato plasmático en pacientes con falla cardíaca no tuvo correlación con la clase funcional de acuerdo a la New York Heart Association. ⁽²⁴⁾ En contraste, en otro estudio se encontró que la producción de NO es disminuido en paciente con falla cardíaca. ⁽²⁵⁾ Se midió la actividad de NOS2 en tejido ventricular izquierdo de 17 pacientes con CMD, la cual resultó elevada. ⁽²⁶⁾ A diferencia de lo mencionado se encontró una correlación en la producción de NO en CMD idiopática, de ésta manera, los niveles altos de nitritos en el grupo de CMD idiopática sugiere que el incremento en la actividad de NOS2 también puede contribuir a la producción de NO. ⁽²⁷⁾ El NO producido por células endocárdicas induce efectos relajantes miocárdicos en preparaciones de músculo papilar. ⁽²⁸⁾ Elevados niveles de NO puede aminorar los mecanismos celulares protectores y ejercer efectos citotóxicos y proapoptóticos. El NO derivado del endotelio inhibe el consumo de oxígeno miocárdico mediante el transporte de electrones mitocondriales, la pérdida de esta función regulatoria puede influir en el desarrollo de falla miocárdica. ⁽²⁹⁾ Szabo et al demostró que la apoptosis de las células miocárdicas durante el rechazo alógeno de corazón es paralela a la expresión de NOS2, lo cual sugiere que la apoptosis ocurre por acción del NO y peroxinitritos. ⁽³⁰⁾ La modulación en el consumo de oxígeno por NO se preserva en falla miocárdica, importante en la regulación de la respiración mitocondrial. ⁽³¹⁾ Se demostró un aumento en la presión en cuña capilar pulmonar (PCWP) durante la inhalación de NO en insuficiencia cardíaca severa de pacientes

con CMD y cardiomiopatía isquémica. ⁽³²⁾ La inhalación de NO causa una disminución de la resistencia vascular pulmonar asociado con un incremento en la presión de llenado del ventrículo izquierdo así, el NO contribuye a la relajación de arterias y venas pulmonares in vitro. ⁽³³⁾ El efecto vasodilatador del NO a nivel pulmonar lleva a la hipótesis de que la reducción de la postcarga puede llevar a una redistribución del volumen sanguíneo a la circulación pulmonar y a una ausencia de edema pulmonar. ⁽³⁴⁾ Estudios recalcan la dificultad de la investigación in vivo del NO debido a que se une rápidamente a la hemoglobina, así, es probablemente el NO endógeno causa la mayoría de Mb. ⁽³⁵⁾ La combinación de hemoglobina con NO a la forma de nitrosilhemoglobina cuenta con una afinidad de 1500 veces mayor que con el monóxido de carbono. ⁽³⁶⁾ Una concentración mayor del 20% de Mb son bien tolerados, pero el aumento de 40% se asocia con síntomas cardiorrespiratorios, así mismo, se han identificado varios agentes que inducen aumento en la concentración de NOx, (anexo 2). ⁽³⁷⁾ Estudios recientes han revelado efectos inotrópicos positivos y negativos del NO. ⁽³⁸⁾ Solo pacientes seleccionados con CMD requiere cateterismo cardiaco, particularmente aquellos con dolor torácico o sospecha de enfermedad isquémica. La ventriculografía izquierda demuestra una dilatación de ésta cámara, con hallazgos de una reducción difusa en el movimiento de la pared característica de enfermedad isquémica; mientras que la disfunción global es más típica de CMD. La fracción de expulsión se reduce y el volumen telediastólico se incrementa como resultado del daño de la contractilidad del ventrículo izquierdo. ⁽³⁹⁾ Los nitratos orgánicos son ésteres poliólicos de ácido nítrico. Los nitratos orgánicos de bajo peso molecular (nitroglicerina) son líquidos oleosos moderadamente volátiles,

mientras que los ésteres de nitratos de alto peso molecular (dinitrato de isosorbide) son sólidos. Así, los nitratos y nitritos orgánicos son compuestos capaces de convertirse en óxido nítrico, denominados nitrovasodilatadores. La biotransformación de los nitratos orgánicos es la hidrólisis por la glutathion reductasa, convirtiéndolos en metabolitos desnitrados y nitritos orgánicos más solubles en agua. ⁽⁴⁰⁾

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Durante mucho años se ha estudiado el papel del óxido nítrico en la fisiopatología del daño miocárdico crónico tanto en pacientes con miocardiopatía dilatada como en la causada por isquemia. El mecanismo por el cual incrementa el óxido nítrico en pacientes con falla miocárdica es desconocida aún. Sin embargo, su aumento deriva en la disminución de la contractilidad miocárdica por el aumento del guanosin monofosfato cíclico, lo que provoca una disminución del calcio intracelular, responsable, a su vez, de la relajación del músculo miocárdico. Debido a esto, es necesario establecer una relación entre la producción del óxido nítrico con el grado de daño de la función ventricular, mediante la cuantificación de los metabolitos estables del óxido nítrico, como son los nitratos y la metahemoglobina como efecto adverso. Éstos como indicadores de la producción endógena de óxido nítrico.

En estudios previos se ha estudiado una relación entre el óxido nítrico y el grado de daño miocárdico, sin embargo, no se ha establecido si la etiología de la enfermedad (isquémica y no isquémica) es un factor que modifique las concentraciones de derivados del óxido nítrico. Por éste motivo, es de importancia relacionar al óxido nítrico como indicador de daño miocárdico tanto la de etiología isquémica como la de no isquémica, como es el caso de la cardiomiopatía dilatada. Se requieren más trabajos en humanos para probar la importancia potencial de la actividad del óxido nítrico en la contractilidad miocárdica.

HIPÓTESIS

Hipótesis general de trabajo. La concentración de nitritos y metahemoglobina se incrementa en forma directa al daño miocárdico, tanto en la CMD de origen isquémico como en no isquémico

Hi. Los niveles séricos de nitritos y metahemoglobina de pacientes con daño miocárdico se encuentran por arriba de los valores de referencia.

Ho. Los niveles séricos de nitritos y metahemoglobina de pacientes con daño miocárdico se encuentran en valores de referencia.

Hi. Existe diferencia entre las concentraciones séricas de nitritos y metahemoglobina en ambos grupos de daño miocárdico: etiología isquémica y no isquémica.

Ho. Las concentraciones de nitritos y metahemoglobina son similares en el grupo de pacientes de etiología isquémica y no isquémica.

Hi. Existe correlación inversa entre las concentraciones séricas de nitritos y metahemoglobina de pacientes con CMD idiopática y el grado de disfunción ventricular izquierda < 40 %, no así en el grupo de daño miocárdico por isquemia, la cual es nula.

Ho. Existe correlación directa entre las concentraciones séricas de nitritos y metahemoglobina de pacientes con CMD idiopática y el grado de disfunción ventricular izquierda < 40 %, en tanto, en el grupo de daño miocárdico por isquemia es inversa.

DEFINICIÓN DE VARIABLES

La variable independiente es el daño miocárdico de etiología isquémica o no isquémica de la cardiomiopatía dilatada. Las variables dependientes son los metabolitos del óxido nítrico: nitratos/nitritos y metahemoglobina.

VARIABLES INDEPENDIENTES:

Daño miocárdico: La cardiomiopatía dilatada es un síndrome caracterizado por una dilatación cardíaca con daño en la función sistólica y diastólica de uno o ambos ventrículos. La cardiomiopatía dilatada de causa isquémica es la producida por un infarto del miocardio extenso, o varios infartos que han dejado áreas del corazón con incapacidad funcional acentuada o total. La causa no isquémica de la cardiomiopatía dilatada, es el deterioro progresivo de la función ventricular sistólica, diastólica o ambas, lo cual constituye el estado final de un proceso que afectó al miocardio como factores genéticos, familiares, virales, citotóxicos, inmunológicos, por abuso de alcohol o cocaína, virus de inmunodeficiencia humana, anormalidades metabólicas, por fármacos cardiotoxicos y por radicales libres como el óxido nítrico debido a un aumento del NOS2.

Variable de tipo nominal

Daño ventricular: En la cardiomiopatía dilatada el deterioro progresivo de la función ventricular se manifiesta por un aumento en los volúmenes diastólico final y sistólico final del ventrículo izquierdo, reducción de la fracción de expulsión y movimiento anormal que puede ser generalizado ó segmentario de la pared ventricular. Operacionalmente, la falla ventricular izquierda es la disminución de la fracción de expulsión ventricular izquierda < 40 %.

Variable de tipo cuantitativa discreta y nominal dicotómica

VARIABLES DEPENDIENTES:

Nitritos (NH_2^-): Es metabolito del óxido nítrico. Los nitritos son metabolizados en el hígado por la glutatión reductasa a nitritos, el cual es eliminado por los riñones, además es catalizada por metales de transición como el hierro, contenido en el grupo heme de la hemoglobina, dando lugar a la formación de metahemoglobina. Así, los nitratos y nitritos son los agentes oxidantes más fuertes de metahemoglobinemia. Son potentes relajantes del músculo liso con efectos cardiovasculares como vasodilatación de arterias coronarias y arterias periféricas, y especialmente venas. Los nitritos serán determinados como iones nitritos en plasma en micromol por litro ($\mu\text{mol/L}$).

Variable de tipo cuantitativa continua.

Metahemoglobina: Es una hemoglobina anormal en la cual el estado ferroso reducido (Fe^{++}) de la molécula heme es oxidada a la forma férrica (Fe^{+++}). La presencia de hierro oxidado, incrementa la afinidad por el oxígeno con la consecuente reducción de liberación de oxígeno a los tejidos, intensificando la hipoxia tisular y la cianosis. La metahemoglobinemia es normalmente presente en menos del 1 por ciento del total de hemoglobina en condiciones fisiológicas. Así, la metahemoglobinemia es definida como la concentración de metahemoglobina mayor al 1 %. La metahemoglobina puede ser reportada con números absolutos, en miligramos por decilitro (mg/dL).

Variable de tipo cuantitativa continua.

VARIABLES DE CONFUSIÓN.

Falla ventricular derecha: Es la disminución de la capacidad contractil del ventrículo derecho, con desviación a la derecha de las curvas de expulsión/volumen. Se cuantifica por la disminución de la fracción de expulsión (volumen total diastólico expulsado en cada sistole). La fracción de expulsión normal del ventrículo derecho es del 40 al 60% según el método empleado. Operacionalmente la falla del ventrículo derecho es la disminución en la fracción de expulsión, $\leq 30\%$. Determinada por Medicina Nuclear o cateterismo cardiaco.

Nitratos orgánicos: Son ésteres poliólicos de ácido nítrico. Las concentraciones máximas de nitroglicerina se encuentran en el plasma luego de 4 minutos de la administración sublingual; éste agente tiene una vida media de 1 a 3 minutos. Los metabolitos dinitrados, que son 10 veces más potentes como vasodilatadores, tienen una vida media de aproximadamente 40 minutos. La administración sublingual de dinitrato de isosorbide produce concentraciones plasmáticas máximas en el plasma luego de 6 minutos, las cuales descienden rápidamente; su vida media es alrededor de 45 minutos. Los metabolitos principales, el 2 mononitrato de isosorbide y 5 mononitrato de isosorbide tienen una vida media más prolongada.

Se realizará un período de lavado para los pacientes que reciben tratamiento con nitratos orgánico, el cual será de 12 horas previas a la toma de la muestra.

Otros fármacos: No se ha demostrado producción o interacción de nitratos y metahemoglobina como metabolitos o efectos adversos con los fármacos administrados a los pacientes de acuerdo a la patología, CMD idiopática y cardiopatía isquémica, como son: digoxina, diuréticos de asa (furosemide), antagonistas de la aldosterona (espironolactona), inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (captopril y enalapril), para este último grupo de medicamentos se ha demostrado que no hay diferencias significativas ($p=0.23$) entre los niveles de los metabolitos del óxido nítrico y los pacientes que recibieron y que no recibieron inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina ⁽²³⁾; sulfonilureas (gliburida), anticoagulantes orales (warfarina, acenocumarina), antagonistas de los receptores H₂ (ranitidina); inhibidores de la H⁺, K⁺-ATPasa (omeprazol).

MATERIAL Y METODO

En el presente estudio fueron incluidos treinta y nueve pacientes con daño miocárdico. Los pacientes consistieron en veinticuatro del sexo masculino y catorce del sexo femenino con edad promedio de 47.15 ± 14.46 (rango 15 a 75) años. En el grupo de daño miocárdico por cardiomiopatía dilatada (CMD) se incluyeron veintiséis pacientes y en el grupo de cardiopatía isquémica (CI) se incluyeron trece pacientes.

Los criterios de inclusión para los dos grupos de estudio fueron pacientes de ambos sexos, con edades entre 15 y 75 años de edad con diagnóstico de daño miocárdico por cardiomiopatía dilatada y el causado por cardiopatía isquemca. Se incluyeron pacientes con una fracción de expulsión del ventrículo izquierdo menor de 40 %, la cual fue determinada por medicina nuclear o ecocardiografía. A los pacientes que estuvieron en tratamiento farmacológico con nitratos orgánicos se le realizó un periodo de lavado de 12 horas, previo a la recolección de la muestra, posterior a la cual, dicho medicamento, se continuó como fue prescrita.

No se incluyeron pacientes con enfermedades sistémicas asociadas como insuficiencia renal aguda o crónica o que tuvieran una creatinina sérica mayor a 2.5 mg/dL; y tampoco pacientes que hayan sido expuestos a sustancias que alteren el valor real de la fuente endógena de nitritos y metahemoglobina.

En nuestro estudio no se excluyó a ningún paciente ya que todos cumplieron con los requisitos y especificaciones con base en la técnica para la determinación sérica de nitritos y metahemoglobina. Todos los pacientes con tratamiento farmacológico con nitratos orgánicos llevaron a cabo un período de lavado de 12 horas para los medicamentos especificados.

Determinación de la concentración de nitritos plasmáticos.

Se realizó en un grupo de 26 pacientes con daño miocárdico por CMD y en 13 pacientes con CI de la Clínica de Insuficiencia Cardíaca del Hospital de Cardiología del Centro Médico Nacional Siglo XXI. Una vez llevado a cabo ayuno y el período de lavado de 12 horas para nitratos orgánicos, se procedió a la recolección de la muestra, colocando al paciente en decúbito dorsal por 5 minutos, se realizó un procedimiento de antisepsia de la piel de la cara anterior de la articulación del codo, se colocó un torniquete, aplicando sistema Vacutainer® se obtuvo sangre venosa periférica de la vena cefálica del antebrazo, dicho torniquete tuvo una duración no mayor a un minuto para evitar la activación de los factores de coagulación y de la producción de radicales libres; se extrajeron 7 mL de sangre total en un tubo sin anticoagulante. Posteriormente la sangre se centrifugó a 3000 revoluciones por minuto por 5 minutos y el suero resultante se almacenó en alícuotas a - 70 C. El procesamiento de las muestras se llevó a cabo en el Laboratorio de Investigación en Toxicología de la Facultad de Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, donde se realizó el análisis de la muestra para la determinación de nitritos plasmáticos mediante el

reactivo de Griess. El suero de las muestras fue diluido cinco veces con agua destilada y deproteinizadas añadiendo 1/20 del volumen de sulfato de zinc (300g/L) para dar una concentración final del mismo de 15 g/L. Después se centrifugo a 3500 revoluciones por minuto por 15 minutos a temperatura de la habitación, se obtuvieron 500 μ L de sobrenadante la cual se añadieron 500 μ L de reactivo de Griess (1g/L de sulfanilamida, 25 g/L de ácido fosfórico y 0.1 g/L de *N*-1-naphthylethylenediamina). Posterior a un tiempo de espera de 10 minutos y a temperatura ambiente se desarrolló un color, se midió la absorbancia a una longitud de onda de 540 nm, cada muestra fue procesada por duplicado. La curva de calibración fue hecha con una solución estándar de 1000 partes por millón (ppm) usando 1.63 g/L nitrato de potasio; se realizaron estándares de 0.25, 0.50, 1 y 2 ppm de nitratos. Los resultados obtenidos de las muestras de los pacientes fueron ppm, los cuales fueron convertidos a μ mol/L. ⁽⁴²⁾

Determinación de metahemoglobina.

Se llevó a cabo en el método Evelyn y Malloy. En el mismo proceso de recolección de muestra se obtuvo un tubo de 5 mL de sangre total con anticoagulante heparina de sodio. El procesamiento de la metahemoglobina se llevo a cabo en la primera hora de recolectada la muestra en la sección de Hematología del Laboratorio Clínico del Hospital de Cardiología del Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social.

La metahemoglobina es un tipo de hemoglobina en la que el ión ferroso ha sido oxidado al estado férrico; tiene la máxima absorción a 630 nm. Cuando se

añade cianuro, esta banda de absorción desaparece y el cambio resultante en la densidad óptica es directamente proporcional a la concentración de metahemoglobina. La totalidad de la hemoglobina de la muestra se midió después de la conversión completa a cianohemoglobina por la adición del reactivo de ferricianuro de potasio. La conversión no midió sulfohemoglobina. La turbidez del hemolizado puede evitarse con la adición de un detergente no iónico. El procesamiento de la muestra es como sigue: Se lisaron 0.2 mL de sangre en una solución que contiene 4 mL de tampón de fosfatos y 6 mL de la solución detergente. El hemolizado se dividió en dos partes (A y B). La absorción de A se midió en un espectrofotómetro a 630 nm (D1). Al mismo tubo se añadió 50 μ L de solución de cianuro potásico (conversión en cianohemoglobina), a la vez, se midió de nuevo la densidad óptica después de la mezcla (D2). La variación de la densidad óptica es proporcional a la cantidad existente de metahemoglobina. Se añadió a B 50 μ L de solución de ferricianuro potásico (conversión a metahemoglobina), se midió la densidad óptica después de 5 minutos y en la misma longitud de onda (D3). Se añadió a B 50 μ L de solución de cianuro potásico (conversión de toda la metahemoglobina en cianohemoglobina), se mezcló y se hizo una nueva lectura (D4). Todas las mediciones se realizaron frente a un blanco de tampón y detergente en la misma proporción que están en la muestra. Por último, la metahemoglobina (%) se determinó como la diferencia de D1 y D2 entre la diferencia de D3 y D4 por 100.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos se expresaron en promedio \pm desviación estándar y en gráficas de puntos mediante la determinación de medidas de tendencia central y medidas de dispersión. Para determinar el nivel de significancia de la diferencia entre las medias de dos muestras no apareadas se utilizó la prueba "u" de Mann-Whitney (muestra de libre distribución), las comparaciones de nitritos entre los tres grupos fueron ejecutadas por ANOVA. Para precisar la asociación entre dos variables cuantitativas se utilizó el coeficiente de correlación "r" (Pearson) y de ésta manera conocer si es directa o inversamente proporcional la magnitud de la asociación. Todas las pruebas fueron computadas con el software SPSS para Windows Versión 10.0.1. Como significancia estadística fue aceptado un nivel de $p < 0.05$.

CONSIDERACIONES ETICAS

Cada paciente deberá firmar una carta de consentimiento informado (anexo 3), así, se guardará integridad y total discreción en la identidad de cada uno de ellos. La recolección de las muestras para el objetivo de este estudio, está legalmente permitido, de acuerdo a las especificaciones de la Ley General de Salud (artículos 100 a 103) de la República Mexicana y de acuerdo al estándar aprobado por National Committee Control Laboratory Standard, NCCLS, de procedimientos para la colección de muestras sanguíneas diagnósticas por venopunción ⁽⁴¹⁾.

RESULTADOS

Se estudió el universo de pacientes con daño miocárdico de la Clínica de Insuficiencia Cardíaca del Hospital de Cardiología del Centro Médico Nacional Siglo XXI del IMSS, de los cuales fueron evaluados 26 (44.0%) pertenecieron al grupo de cardiomiopatía dilatada (CMD), 13 (22.0%) al grupo de cardiopatía isquémica y 21 (33.8%) sujetos sanos como control. (Cuadro 1)

El total de pacientes tuvo un promedio de edad de 46.85 ± 14.37 (rango 15 a 76 años), para el grupo de CMD fue de 44.5 ± 15.0 años y en el grupo de CI fue de 52.4 años. Se evaluó la relación hombre:mujer en el total de pacientes y de cada grupo y la enfermedad predominó en el sexo masculino. El criterio de estudio de la clase funcional del paciente se realizó para 39 pacientes de acuerdo a la clasificación de la Asociación del corazón de Nueva York (NYHA). Para el grupo de CMD, 17 pacientes presentaron clase funcional I, 8 tuvieron clase funcional II, el paciente restante de este grupo presentó clase funcional III. La clase funcional que presentaron los pacientes del grupo de CI fue similar, excepto que ningún paciente se encontró en clase funcional III. No hubo diferencia en las características clínicas de los pacientes de los dos grupos (Cuadro 1).

Cuadro 1. Características clínicas los grupos: cardiomiopatía dilatada y cardiopatía isquémica.

		TOTAL	CMD	CI
N		39	26	13
Edad	Media ± SD	46.85 ± 14.37	44.5 ± 15.0	52.4 ± 12.0
	Rango	15 a 76	15 a 63	33 a 76
Sexo	Masculino	24	15	9
	Femenino	15	11	4
	Rel. H:M	1.6:1	1.3:1	2.2:1
Clase funcional (NYHA)	I	23	17	7
	II	15	8	6
	III	1	1	-
	IV	-	-	-

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

29-A

Los pacientes de nuestro estudio fueron manejados con terapia convencional con digoxina, diuréticos e inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina o dinitrato de isosorbide. Se manejó con anticoagulación a los patients con FEVI menor a 30% e historia de fenómenos tromboembólicos. Se utilizó tratamiento con inhibidores de la HMG-CoA reductasa para aquellos pacientes que presentaron hipercolesterolemia (Cuadro 2).

Cuadro 2. Terapia convencional de pacientes con cardiomiopatía dilatada y cardiopatía isquémica.		
Fármaco	CMD (%)	CI (%)
IECA	100	100
Digxina	100	85
Diuréticos	100	100
Isosorbide		100
HMGCoA reductasa		45

El valor promedio obtenido de la fracción de expulsión del ventrículo izquierdo (FEVI) para el grupo de CMD fue de $27.12 \pm 7.6 \%$ (rango 11 a 40) y para el grupo de CI fue de $25.3 \pm 6.3 \%$ (rango 15 a 35), sin diferencia entre los dos grupos ($p = 0.53$). (Cuadro 3)

Cuadro 3. Muestra el valor medio de las variables independiente y de confusión para cada grupo.			
	CMD	CI	* P
	Media \pm SD	Media \pm SD	
FEVI	27.8 ± 7.6	25.3 ± 6.3	0.5
FEVD	34.1 ± 8.1	34.7 ± 8.9	0.7

* "u" de Mann-Withney

Falta Página

32|

Una de las variables de nuestro estudio fue cuantificar la concentración de nitritos séricos como indicador de la producción de óxido nítrico endógeno y los valores de la concentración promedio de nitritos séricos para el grupo de CMD fue de $186.18 \pm 104.9 \mu\text{mol/L}$ (95% de intervalo de confianza entre 143.7 a 228.5), mientras que para el grupo de CI fue de $117.6 \pm 79.4 \mu\text{mol/L}$ (95% de intervalo de confianza, entre 69.6 a 165.6). (Cuadro 4)

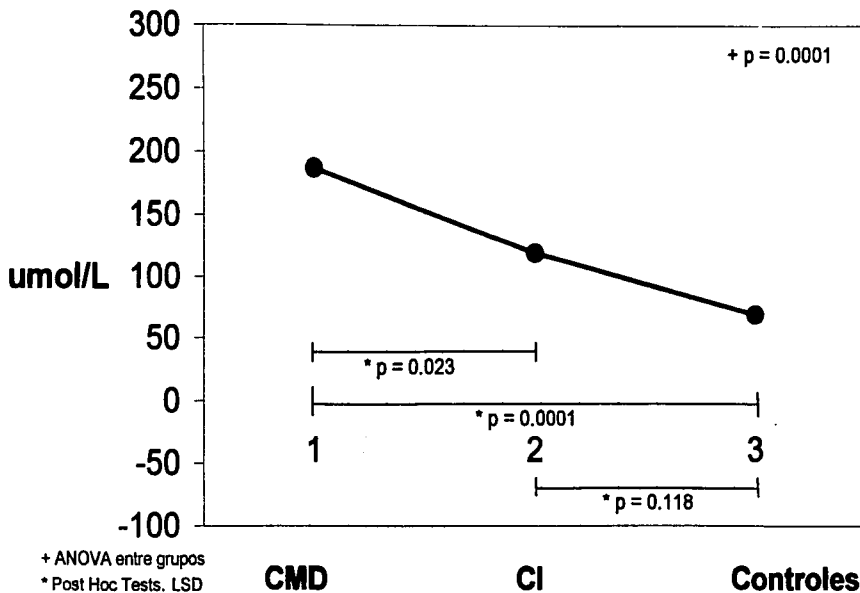
Cuadro 4. Media de nitritos séricos para cada grupo de estudio.				Intervalo de confianza 95% para la media	
Grupo	n	Media	DS	Límite bajo	Límite alto
CMD	28	186.18	104.9	143.7	228.5
CI	13	117.6	79.4	69.6	165.6

De acuerdo a los objetivos planteados en este protocolo, solo se incluyeron dos grupos de estudio, sin embargo, como no se cuentan con valores de referencia de nitritos séricos en la población mexicana, fue necesario determinar un grupo control de 21 personas aparentemente sanas. La concentración media adquirida para los controles fue de $68.7 \pm 59.7 \mu\text{mol/L}$ (95% de intervalo de confianza, entre 40.8 a 96.7).

Se obtuvo significancia ($p = 0.0001$) con la prueba de Kruskal Wallis para establecer diferencia en la media de nitritos séricos entre los grupos de CMD y CI. Así mismo, detectamos diferencia al comparar el grupo de CMD con los controles ($p = 0.0001$) y al grupo de CI con los controles ($p = 0.027$) al empleo de la prueba "u" de Mann-Whitney. Dados estos resultados, al aplicar la prueba de ANOVA para determinar si existe diferencia en los grupos con respecto a la variabilidad del universo, observamos que si existe ($p = 0.0001$); y al aplicar una pos prueba observamos que la diferencia entre los grupos de CMD y CI fue significativa ($p = 0.023$), lo mismo para el grupo de CMD y controles ($p = 0.0001$) pero no así para el grupo de CI con los controles ($p = 0.118$). (Figura 1)

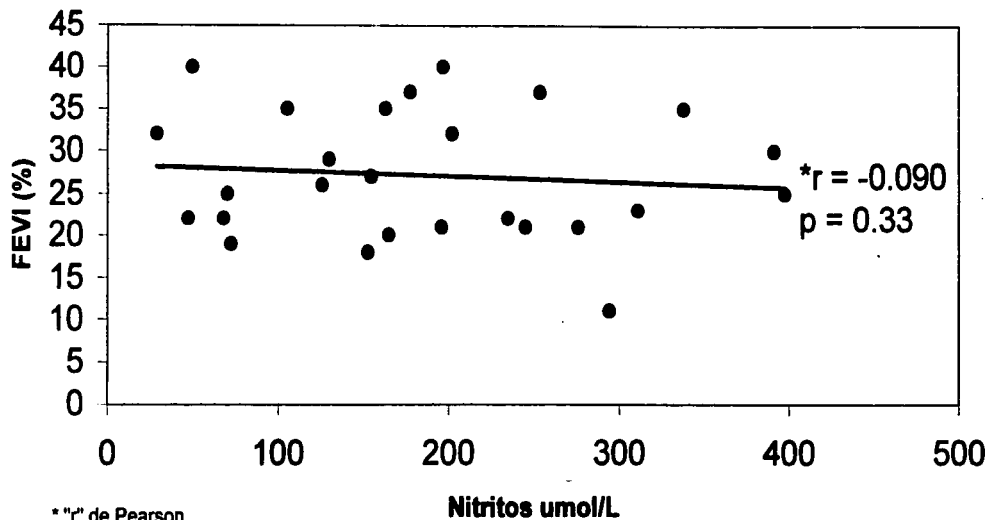
Una vez llevado a cabo el análisis de correlación mediante las pruebas estadísticas, determinamos que no existe correlación entre los niveles de nitritos séricos y la FEVI de los pacientes con CMD ($r = -0.090$, $p = 0.33$) (Figura 2) ni para el grupo de CI ($r = 0.29$, $p = 0.16$) (Figura 3).

Figura 1. Concentración media de nitritos en plasma de pacientes con daño miocárdico



TESIS CON
FALTA DE ORIGEN

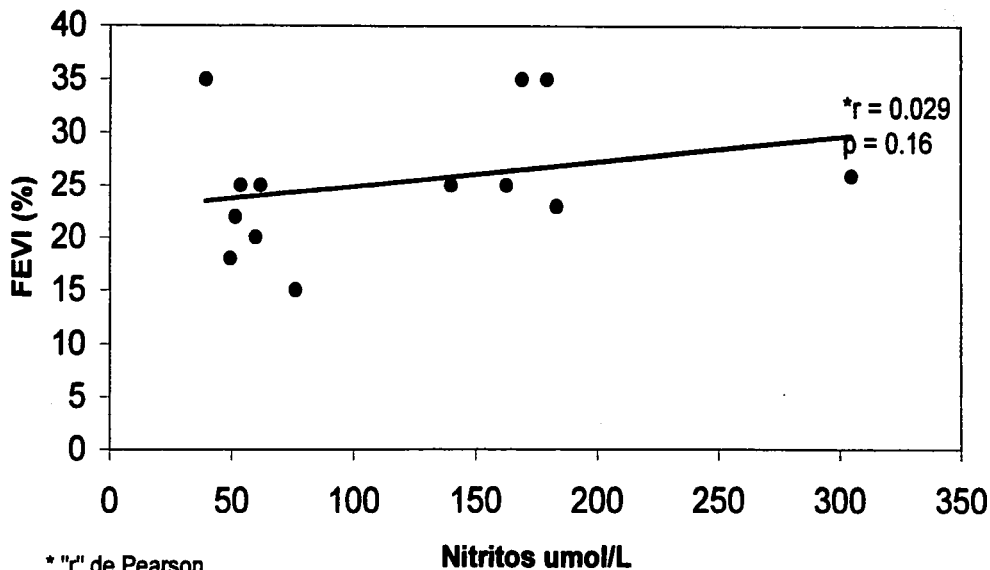
**Figura 2. Correlación entre nitritos y FEVI
Grupo CMD**



*"r" de Pearson

TESIS CON
FALTA DE ORIGEN

**Figura 3. Correlación de nitritos y FEVI
Grupo CI**



* "r" de Pearson

Nitritos umol/L

TESIS CON
VALIA DE ORIGEN

El valor promedio obtenido para la metahemoglobina en el grupo de CMD fue de 1.48 ± 0.4 % (rango 1 a 3), mientras que para el grupo de CI fue de 1.35 ± 0.3 % (1 a 2). Sin embargo, de acuerdo a estos resultados no hubo diferencia entre los valores obtenidos entre los grupos de estudio y los de referencia (1 a 2 %). (Cuadro 5)

No existe significancia de la metahemoglobina entre los grupos de CMD y CI ($p = 0.44$). (Cuadro 5) y (Figura 4)

La principal variable de confusión incluida en nuestro estudio fue el daño miocárdico del ventrículo derecho evaluado mediante la fracción de expulsión del ventrículo derecho. Para considerar disfunción del ventrículo derecho se determinó un valor menor o igual a 35%.

Al analizar los grupos de acuerdo a la presencia de daño del ventrículo derecho (<35% de fracción de expulsión), obtuvimos 18 en el grupo con daño y 21 en el grupo sin daño.

Al comparar las medias de la concentración de nitritos séricos de acuerdo a la presencia o no de falla del ventrículo derecho, se encontró que son diferentes ($p = 0.035$), siendo mayor la concentración de nitritos en pacientes con daño del ventrículo derecho, independientemente de la etiología isquémica o no. (Figura 5)

Cuadro 5. Muestra el valor medio de las variables dependientes para cada grupo.

	CMD	CI	Grupo control	* P
	Media ± SD	Media ± SD	Media ± SD	
Nitritos	186.18 ± 104.9	117.6 ± 79.4	68.78 ± 59.7	*0.0001 **0.02 *** 0.023 ‡ 0.0001 ! 0.11
Metahemohemoglobina	1.48 ± 0.47	1.35 ± 0.3	1	≡ 0.44

* Kruskal-Wallis. $p < 0.05$

** ANOVA . $p < 0.05$

*** $p < 0.05$ entre grupos CMD y CI

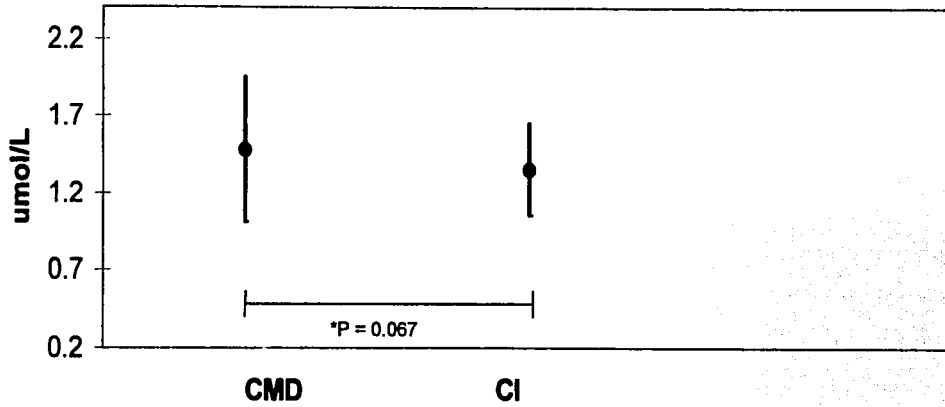
‡ $p < 0.05$ entre grupos CMD y control

! $p > 0.05$ entre grupos CI y control

≡ "u" Mann-Withney. $p > 0.05$

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 4. Metahemoglobina en pacientes con daño miocárdico.

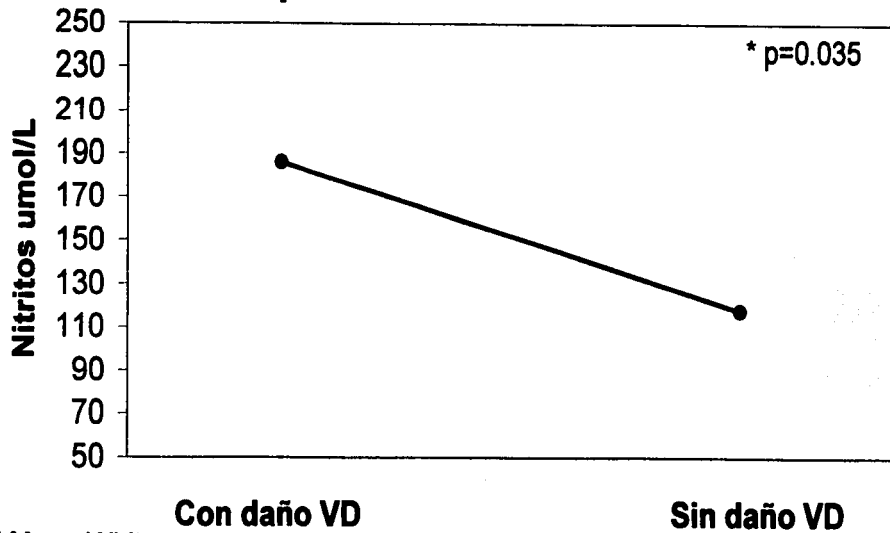


*"u" de Mann-Whitney
Valor de referencia 1 a 2%

TESIS CON
FALTA DE ORIGEN

RECIBO DE ENTREGA
TALLA DE ORIGEN
TMSIS CON
NOC SISAL

Figura 5. Concentración de nitritos en presencia de daño VD



"u" Mann-Whitney

DISCUSIÓN

La cardiomiopatía dilatada (CMD) es una enfermedad propia del músculo cardíaco de causa primaria o secundaria. ⁽¹⁾ En estudios previos se ha establecido que constituyentes celulares de la célula endotelial y del músculo liso de la microvasculatura cardíaca y macrófagos tisulares son capaces de producir óxido nítrico en respuesta a citoquinas específicas, ⁽¹⁴⁾ promoviendo un deterioro hemodinámico de la función cardíaca en la CMD.

Las formas inherentes de la CMD ocurren en el 30% de los casos y es la causa más frecuente de insuficiencia cardíaca severa, lo cual lleva a la necesidad de trasplante cardíaco. La mayoría de los pacientes inician entre los 20 y los 50 años de edad, pero puede afectar niños y ancianos. ⁽⁴³⁾ En el grupo de CMD de nuestro estudio se incluyeron desde adolescentes hasta ancianos lo determina la gran universalidad de la enfermedad.

La ocurrencia de la CMD es tres veces mayor en el sexo masculino que en el femenino ⁽³⁾, similarmente ocurrió en una población de 169 pacientes con CMD, donde la relación hombre:mujer fue de 2.4:1 ⁽⁴⁴⁾. De acuerdo a estas observaciones, la relación del sexo con la enfermedad en nuestro estudio predominó en el sexo masculino.

La importancia de los objetivos y del diseño de la terapia para cada paciente varía de acuerdo al estadio clínico de la insuficiencia cardíaca. La evidencia de un mejoramiento en la supervivencia con terapia médica se ha

mostrado para cada estadio de la disfunción ventricular izquierda, desde asintomática hasta la falla cardíaca sintomática severa. El impacto de la terapia para reducir la progresión de la enfermedad como la medición de la fracción de expulsión es más aparente antes del desarrollo de los síntomas severos. ⁽¹⁾

Estudios recientes en humanos indican que la expresión de NOS2 aumenta en los corazones de pacientes cuyos niveles séricos de nitritos y nitratos también son incrementados en músculo cardíaco ^(16, 17). En nuestro estudio se demostraron niveles aumentados de nitritos séricos en pacientes con daño miocárdico por CMD comparados con los pacientes con daño miocárdico por isquemia y con los controles sanos. Un estudio similar hecho por Winlaw y cols., encontró una diferencia significativa de los niveles séricos de nitritos entre el grupo control y pacientes con insuficiencia cardíaca, pero no encontró diferencia de dichos niveles entre los grupos de CMD y CI ⁽²⁴⁾. Y posteriormente en otro ensayo realizado por Rakhit y cols., demostraron que hay niveles incrementados de nitritos tanto en CMD como en CI ⁽²⁷⁾. De esta manera, en nuestro estudio si encontramos diferencia significativa en los nitritos séricos entre el grupo de CMD y CI, lo que sugiere un incremento en la actividad del óxido nítrico y que estos hallazgos son consistentes con los reportados por Belder y cols. ⁽²⁶⁾

Controversialmente, los valores del óxido nítrico encontrados por Sumino y cols. son significativamente disminuidos en pacientes con insuficiencia cardíaca, de ésta manera la posible razón que dio éste investigador para explicar este hallazgo, fue la reducción de la función renal que acompaña a la disfunción cardíaca. ⁽²⁵⁾

Así mismo, Lewis y cols., refieren que el incremento de los niveles séricos de nitratos y nitritos en el músculo cardíaco es frecuente cuando existe disfunción ventricular sistólica y diastólica, estos últimos determinados por ecocardiografía ⁽¹⁶⁾. Node y cols., señalaron que los niveles de los metabolitos del óxido nítrico (NOx) en pacientes con insuficiencia cardíaca moderada a severa fueron incrementados en comparación con sujetos sanos y hubo correlación inversa entre los niveles cardíacos de NOx y FEVI ⁽²³⁾. A diferencia de estos dos estudios, en el presente no encontramos correlación entre los niveles de nitritos séricos con los valores de FEVI obtenidos por medicina nuclear y ecocardiografía.

Dentro del proceso patogénico de la CMD, se incluye un tono vascular periférico anormal por disfunción endotelial e insuficiencia de bomba, lo cual origina un aumento de la angiotensina II y catecolaminas con la consiguiente producción de óxido nítrico. ⁽⁴⁶⁾

Los resultados de nitritos séricos en este estudio son particularmente interesantes, debido que sugieren un incremento en la producción de óxido nítrico en el proceso inflamatorio crónico como parte del proceso patogénico de la CMD. Con esto podemos deducir que el aumento en la producción de óxido nítrico en pacientes con CMD se debe a que existe un aumento en la actividad de NOS2 en los cardiomiocitos.

No hay informes de la correlación del óxido nítrico con el daño del ventrículo derecho (VD). Nuestro estudio es el primero que notifica que existe una correlación entre los niveles de nitritos con el daño del ventrículo derecho, lo cual sugiere que la producción de óxido nítrico en pacientes con daño miocárdico depende más del daño del VD que del VI.

De manera alternativa, es posible que la FEVD refleje la función sistólica y diastólica general del VI, además de la función primaria del ventrículo derecho en pacientes con insuficiencia biventricular. ⁽⁴⁷⁾

Esto parece expresar un grado más avanzado de enfermedad con mayor grado de disfunción endotelial. Ya que se ha establecido que no solo el daño del VI es un predictor de mal pronóstico, sino que también el VD, y en el futuro, debemos diferenciar si el aumento del óxido nítrico es parte de la causa del daño del ventrículo derecho ó ambas tienen un factor causal común.

CONCLUSIONES

De acuerdo a las hipótesis planteadas, se concluye que los pacientes con daño miocárdico tienen una producción aumentada de óxido nítrico endógeno, cuyo indicador fueron los nitritos séricos; así, dichos niveles son superiores en los pacientes con cardiomiopatía dilatada que en los pacientes con cardiopatía isquémica, y por supuesto, mayores que en sujetos aparentemente sanos. De éste modo deducimos que el aumento del óxido nítrico en pacientes con cardiomiopatía dilatada obedece a una mayor alteración de la función endotelial y miocárdica por un proceso inflamatorio crónico propio de la patogénesis de la insuficiencia cardiaca.

Sin embargo, la funcionalidad del ventrículo izquierdo medido por la fracción de expulsión del ventrículo izquierdo no tiene asociación alguna con los niveles incrementados de óxido nítrico endógeno tanto en los pacientes con cardiomiopatía dilatada como en los pacientes con cardiopatía isquémica.

Contrariamente, concluimos que la producción elevada de óxido nítrico tiene una estrecha relación con una menor funcionalidad del ventrículo derecho, además, debido a que éste último es indicador de severidad de la insuficiencia cardiaca, inferimos que una mayor producción de óxido nítrico puede anunciar un mayor daño del ventrículo derecho.

BIBLIOGRAFÍA

1. Braunwald E. Heart Disease. The Cardiomyopathies and Myocarditides. Chapter 41. Ed. Saunders Company. 5th edition. 1997. pp 1407-1453.
2. Manolo T, Baughman K, Rodeheffer R. Prevalence and aetiology of idiopathic dilated cardiomyopathy (summary of a National Heart, Lung, and Blood Institute workshop). *Am J Cardiol.* 1992;69(18):1458.
3. Coughlin S, Labenberg J, Tefft M. Black-white differences in idiopathic dilated cardiomyopathy: The Washington DC Dilated Cardiomyopathy Study. *Epidemiology.* 1993; 4:165.
4. Neumann D, Autoimmunity and idiopathic dilated cardiomyopathy. *Mayo Clinic Proceedings.* 1994;69:193.
5. Dec G, Fuster V. Medical progress: Idiopathic dilated cardiomyopathy. *N Engl J Med.* 1994;331:1564.
6. Muir P, Nicholson F, Tilzey A. Chronic relapsing pericarditis and dilated cardiomyopathy: Serological evidence of persistent enterovirus infection. *Lancet.* 1989;1(1507):804.
7. Carlquist J, Menlove R, Murria M. HLA class II (DR and DQ) antigens associations and idiopathic dilated cardiomyopathy. Validation study and meta-analysis of published HLA association studies. *Circulation.* 1991;83(2):515.
8. Abelmann W, Lorel B. The challenge of cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol.* 1989;13(6):1219.

9. Herskowitz A, Vlahov D, Willoughby S. Prevalence and incidence of left ventricular dysfunction in patients with human immunodeficiency virus infection. *Am J Cardiol.* 1993;71(11):955.
10. Garrido M, Gaxiola A, Castaño R, Méndez G, Argüero R. Reporte de mortalidad de los últimos 6 años de pacientes en espera de trasplante y de la clínica de insuficiencia cardiaca. *Arch Inst. Cardiol Mex.* 1999;69 (suppl # 173):44.
11. Vallance P, Collier J. Biology and clinical relevance of nitric oxide. *Br Med J.* 1994;309(6951):453-457.
12. Zeballos G, Bernstein R, Thompson C. Pharmacodynamics of plasma nitrate/nitrite as an indication of nitric oxide formation in conscious dogs. *Circulation.* 1995;91(10):2982-2988.
13. Mizutani T, Layon J. Clinical applications of nitric oxide. *Chest.* 1996;110(2):506-524.
14. Kelly R, Balligand J, Smith T. Nitric oxide and cardiac function. *Circ Res.* 1996;79(3):363-380.
15. Schulz R, Panas D, Catena R. The role of nitric oxide in cardiac depression induced by interleukin-1 beta and tumor necrosis factor alpha. *Br J Pharmacol.* 1995;114:27-34.
16. Lewis N, Tsao P, Rickenbacher P. Induction of nitric oxide synthase in the human cardiac allograft is associated with contractile dysfunction of the left ventricular. *Circulation.* 1996;93(4):720-729.
17. Benvenuti C, Bories P, Loisançe D. Increased serum nitrate concentration in cardiac transplant patients. *Transplantation.* 1996;61(7):745-749.

18. Balligand J, Cannon P. Nitric oxide synthases and cardiac muscle: autocrine and paracrine Influences. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997;17(10):1846-1858.
19. Ziemán S, Gerstembliit G, Lakatta E. Upregulation of the nitric oxide-cGMP¹ pathway in aged myocardium: physiological response to 1-arginine. *Circ Res.* 2001;88(1):97-102.
20. Cernadas M, De Miguel S, García-Durán M. Expresión of constitutive and inducible nitric oxide synthases in the vascular wall of young and aging rats. *Circ Res.* 1998;83(3):279-286.
21. Chou TC, Yen MH, Li CY. Alterations of nitric oxide synthase expression with aging and hypertension in rats. *Hypertension.* 1998;31(4):643-648.
22. Chowdhary S, AndreNg G, Nuttal S. Upregulation of nitric oxide-cGMP pathway in aged myocardium. *Circ Res.* 2001;88(5):e48.
23. Node K, Kitakaze M, Yoshihara F. Increased cardiac levels of nitric oxide in patients with chronic heart failure. *The Am J Cardiol.* 2000;86(4):474-477.
24. Winlaw DS, Smythe GA, Keogh AM. Increased nitric oxide production in heart failure. *Lancet.* 1994;343(8892):373-374.
25. Sumino H, Sato K, Sakamaki T,. Decreased basal production of nitric oxide in patients with heart disease. *Chest.* 1998;113(2):317-322.
26. Belder A, Radomski M, Why H. Nitric oxide synthase activities in human myocardium. *Lancet.* 1993;341(8837):84.
27. Rakhit R, Tousoulis D, Lefroy D. Differential nitric oxide synthase activity in ischemic and idiopathic dilated cardiomyopathy. *The Am J Cardiol.* 1999;84(7):737-738.

28. Saha A. Nitric Oxide synthase activities in human myocardium. *Lancet*. 1993;341(8842):448.
29. Drexler H. Nitric Oxide Synthases in the failing human heart. A doubled-edged sword?. *Circulation*. 1999;99(21):2972-2975.
30. Szaboles M, Michler R, Yang X. Apoptosis of cardiac myocytes during cardiac allograft rejection. Relation to induction of nitric oxide synthase. *Circulation*. 1996;94(7):1665-1673.
31. Loke K, Laycock S, Mital S. Nitric oxide modulates mitochondrial respiration in failing human heart. *Circulation*. 1999;100(12):1291-1297.
32. Hayward C, Kalnins W, Rogers P. Left ventricular Chamber Function During Inhaled Nitric Oxide in Patients with Dilated Cardiomyopathy. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1999;34(5):749-754.
33. Loh E, Stamler J, Hare J. Cardiovascular effects of inhaled nitric oxide in patients with left ventricular dysfunction. *Circulation*. 1994; 90(6):2780-2785.
34. Alcides E, Bacal F, Costa J. Inhaled nitric oxide leading to pulmonary edema in stable severe heart failure. *Am J Cardiol*. 1994;74(1):70-72.
35. Pepke-Zaba J, Higenbottam T, Dinh-Xuan T. Inhaled nitric oxide as a cause of selective pulmonary vasodilatation in pulmonary hypertension. *Lancet*. 1991;338(8775):1173-1174.
36. Rimar S, Gillis N. Selective pulmonary vasodilatation by inhaled nitric oxide in due to hemoglobin inactivation. *Circulation*. 1993;88(6):2884-2887.
37. Donovan J. Nitrates, nitrites and other sources of methemoglobinemia. *Methods and Laboratory Proceedings*. Chapter 101. Fourth edition. 1992. pp. 1419-1431.

38. Sarkar D, Vallance P, Harding S. Nitric oxide: not just a negative inotrope. *Eur J Heart Failure*. 2001;3:527-534.
39. Sunnerhagen K, Bhargava V, Shabetai R. Regional left ventricular wall motion abnormalities in idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol*. 1990;65(6):364.
40. Hardman J, Limbird L. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 9th edition. Ed. Mc Graw Hill. 1996. pp.760-767.
41. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture; approved standard. National Committee Control Laboratory Standard. 1998. Fourth edition. H3-A4. pp1-30.
42. Moshage H, Kok B, Huizenga J. Nitrite and nitrate determinations in plasma: A critical evaluation. *Clin Chem*. 1995;41(6):892-896.
43. Graham R, Owens W. Pathogenesis of inherited forms of dilated cardiomyopathy. *NEJM*. 1999;341(23):1759-1762.
44. Michels V, Driscoll D, Miller F. Familial aggregation of idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol*. 1985;55:1232-1233.
45. Belder A, Radomski M, Why H. Myocardial calcium-independent nitric oxide synthase activity is present in dilated cardiomyopathy but not in ischaemic or valvular heart disease. *Br Heart J*. 1995;74:426-430.
46. Coats A, Cleland J. *Controversies in the Management of Heart Failure*. Ed. Churchill Livingstone. 1997. pp 25-40.
47. Remetz M. *Clínicas Cardiológicas de Norteamérica: El ventrículo derecho*. Volumen I. Interamericana McGraw-Hill. 1992. pp 23-4

ANEXO 1**HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

Nombre del paciente: _____

Número de afiliación: _____

Edad: _____ Sexo: _____

Dirección : _____

Teléfono: _____

Diagnóstico: _____

Fecha y hora de recolección de la muestra: _____

MEDICAMENTOS	DOSIS	OBSERVACIONES

	RESULTADO (%)		DAÑO MIOCÁRDICO	
	ECO	MN	SI	NO
FEVI				

PARAMETRO	RESULTADO (mg/dL)
Nitritos	
Nitratos	
Metahemoglobina	

ANEXO 2

Agentes inductores de nitratos

Nitrato de sodio, potasio y calcio	Agua contaminada, fertilizantes, conservadores de comida
Subnitrato de bismuto	Antidiarreico
Nitrato de amonio	Diuréticos, fertilizantes
Nitrato de plata	Tratamiento tópico de quemaduras

Agentes inductores de nitritos

Nitrito de amilo	Vasodilatador, abuso de inhalantes
Nitrito de butilo	Aromatizantes ambientales, abuso de inhalantes
Nitrito de isobutilo	Aromatizantes ambientales, abuso de inhalantes
Nitrito de sodio	Conservadores de comida, anticorrosivo
Nitrobenzeno	Solvente y abrillantadores
Oxido de nitrógeno	Llantas y ensilajes

ANEXO 2

Agentes inductores de metahemoglobina

Anilina	Tintes, reveladores de fotos, aditivos de combustible
Benzocaína	Anestésico tópico
Cloroquina, Dapsona, Primaquina	Antimaláricos
Sulfato de cobre	Emético, funguicida, astringente
Sulfonamidas	Antimicrobiano
Lidocaína y prilocaína	Anestésico, antiarrítmico
Metoclopramida	Antiemético
Azul de metileno	Tinte médico, terapia de metahemoglobinemia
Naftalina	Bola de naftalina
Fenazetín	Analgésico
Fenazopiridina	Antiséptico del tracto urinario
Fenoles	Desinfectante
Toluidina	Antídoto de metahemoglobina, tintes y uñas artificiales

ANEXO 3

CARTA DE CONSENTIMIENTO PARA INCLUSIÓN EN PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN

A quien corresponda:

Yo, _____, afirmo que he sido informado del proyecto de investigación "**DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE METABOLITOS DEL ÓXIDO NÍTRICO EN PACIENTES CON FALLA MIOCÁRDICA**" y doy mi aprobación a los Doctores Martín Horacio Garrido Garduño y Azucena Zillali Ruíz Petatán, para que tomen las muestras necesarias de sangre venosa periférica y realicen el estudio de laboratorio y gabinete. Estoy consciente que cualquier procedimiento, incluyendo la extracción de una muestra sanguínea, puede tener complicaciones de las que ya he sido informado. El protocolo requiere además utilizar información de mi expediente, incluyendo historia clínica y resultados de estudios recientes, por lo que también los autorizo para su utilización, sabiendo que no seré mencionado a título personal en ningún foro, mantendré mi anonimato y tengo la posibilidad de abandonarlo en el momento que yo lo considere necesario, sin que ello altere de manera alguna mi tratamiento o derechos en el Hospital de Cardiología y en el instituto Mexicano del Seguro Social. Este proyecto de investigación cumple con los lineamientos establecidos sobre la investigación en seres humanos de la Ley General de Salud (artículos 100 a 103).

Paciente

Testigo

Testigo

México, D. F. a _____ de _____ del 2002.