

# L-carnitina en el miocardio aturdido, acción funcional y estructural. Estudio experimental en perros

A. Hernández, C. Capdevila, J. Cosín y M. Portolés

Unidad Cardiocirculatoria. Centro de Investigación. Hospital Universitario La Fe. Valencia. España.

---

**Introducción y objetivos.** La mayor parte de la producción de adenosín trifosfato (ATP) por el miocardio proviene de la oxidación de ácidos grasos; la carnitina es el sustrato de enzimas transportadoras de los ácidos grasos hacia el interior de las mitocondrias. La isquemia miocárdica está asociada a la depleción de carnitina. La carnitina induce la recuperación de la contractilidad miocárdica afectada por isquemias breves y repetidas y limita la aparición del aturdimiento del miocardio. Nuestro objetivo fue estudiar los efectos de la L-carnitina en la estructura mitocondrial miocárdica en un modelo experimental de miocardio aturdido por isquemias muy breves y repetidas.

**Métodos.** Se estudiaron 2 series: control (6 perros) y carnitina (6 perros) a la que se administró L-carnitina a dosis de 250 mg/kg/día, por vía oral, desde 7 días previos a la realización del protocolo isquémico y durante todo el seguimiento (10 días). El protocolo isquémico consistió en 20 oclusiones completas de la arteria descendente anterior de 2 min de duración y 3 min de reperfusión entre ellas. Se efectuó el estudio de ultraestructura miocárdica en el día considerado como basal sin protocolo isquémico, y a las 24 h y los 10 días de éste. Se realizó control de parámetros de función cardíaca diario. El estudio de la ultraestructura mitocondrial se ha realizado con microscopio electrónico de transmisión mediante la valoración cuantitativa de las

mitocondrias lesionadas, fusionadas, emparejadas y los gránulos de lipofuccina.

**Resultados.** Los parámetros de función cardíaca global no mostraron diferencias entre ambas series en las distintas fases del estudio. El daño mitocondrial producido por las isquemias fue significativamente menor en la serie de carnitina que en la de control (el 24,7 frente al 54%;  $p < 0,001$ ), con más fusiones y emparejamientos mitocondriales en presencia de carnitina. Esta situación de menor daño y mayor actividad mitocondrial confirma el efecto cardioprotector de la carnitina.

**Conclusión.** La L-carnitina ejerce un efecto positivo funcional y estructural en el miocardio isquémico y en el aturdido.

*Palabras clave:*  
Carnitina. Isquemia. Mitocondria.

---

## L-CARTINITINE IN STUNNED MYOCARDIUM: FUNCTIONAL AND STRUCTURAL ACTION. AN EXPERIMENTAL STUDY IN DOGS

**Introduction and objectives.** Myocardial ATP is mainly produced by fatty acid oxidation, metabolites are then carried into the mitochondria by carnitine enzymes. Cardiac ischemia is associated with carnitine depletion. Carnitine induces myocardial contractility recovery after its alteration due to brief and repeated ischemic episodes and limits the onset of myocardial stunning. Our objective was to study the effects of L-carnitine on the myocardial mitochondria structure in an experimental myocardial stunning model.

**Methods:** Two series were studied, a control (6 dogs) and a carnitine (6 dogs). L-carnitine was

Correspondencia: Dra. A. Hernández Martínez.  
Unidad de Cardiocirculatorio. Centro de Investigación. Hospital Universitario La Fe.  
Avda. Campanar, 21. 46009 Valencia. España.  
Correo electrónico: hernandez\_amp@gva.es

Recibido el 29 de enero de 2004 y aceptado el 29 de junio de 2004.

administered orally to the latter at doses of 250 mg/kg/day, starting 7 days prior to application of the ischemic protocol and throughout the follow-up period (10 days). The ischemic protocol (IP) consisted of 20 complete occlusions of the anterior descending coronary artery, each lasting 2 min and with a 3-min reperfusion period between occlusions. The ultrastructural study was conducted on the considered basal day without IP, again 24 hours later and 10 days after IP by electronic transmission microscopy, damaged, fused and paired mitochondria and lipofuccine granules were quantified. Cardiac function parameters were recorded daily.

**Results:** No differences were found in global cardiac function or ECC between the 2 series. Mitochondrial damage due to ischemia was significantly less in the carnitine series than the control series (24.7% versus 54%,  $p < 0.001$ ); more mitochondrial fusions and pairs were observed in the presence of carnitine. Data showed less mitochondrial damage and higher mitochondrial activity in the carnitine series and thus confirmed the cardio-protective effect of carnitine against ischemia.

**Conclusion:** L-carnitine exerts a positive functional and structural effect on ischemic and stunned myocardium.

**Key words:**

Carnitine. Ischemia. Mitochondria.

## Introducción

Se define como miocardio aturdido el que presenta una disfunción contráctil reversible que persiste tras la isquemia miocárdica, a pesar del completo restablecimiento del flujo sanguíneo coronario<sup>1-3</sup>. En estudios previos realizados por nuestro grupo en un modelo experimental en perros<sup>4</sup> pudimos observar cómo la repetición de episodios de isquemias coronarias muy breves (2 min), seguidas de reperfusiones también de corta duración (3 min) y que podrían equivaler a episodios de isquemia silente, eran capaces de ocasionar aturdimiento miocárdico con alteraciones funcionales y estructurales<sup>5,6</sup> que se prolonga más de 10 días en el modelo canino. Entre los mecanismos involucrados se han propuesto múltiples teorías<sup>7,8</sup>; en definitiva, se podría producir una depleción de ciertas sustancias con lo que se limitaría la producción/liberación de energía. Una de esas sustancias es la carnitina, aminoácido que interviene en el metabolismo de los ácidos grasos, que actúa como sustra-

to de enzimas (carnitina palmitoiltransferasa I y II) que se encargan de transportar los ácidos grasos de cadena larga hacia el interior de las mitocondrias, donde son oxidados y se produce energía que se libera al citosol. También evita la acumulación extramitocondrial de metabolitos tóxicos de los ácidos grasos libres<sup>9-11</sup>.

La isquemia induce la depleción de carnitina miocárdica<sup>12</sup>, y la reducción de sus valores llega a tener consecuencias patológicas tanto por la acumulación de ácidos grasos y sus metabolitos como por la disminución de producción de energía en el miocardio y la inhibición de sistemas enzimáticos<sup>13,14</sup>.

Considerando que la depleción de carnitina podría desempeñar un papel importante en la alteración postisquémica de la contractilidad, se ha estudiado el efecto protector de altas concentraciones séricas de L-carnitina sobre la función del miocardio aturdido por isquemias muy breves y repetidas, así como los cambios estructurales que la L-carnitina produce sobre las mitocondrias y la medida en que dichos cambios pudieran ser responsables de la protección contra el aturdimiento isquémico.

## Material y métodos

### Series experimentales

En el estudio se incluyeron 12 perros mestizos válidos de ambos性s con pesos comprendidos entre los 16 y los 36 kg. Se cumplió en todos los casos la normativa sobre protección de animales utilizados para experimentación (Real Decreto 223/1988). Con ellos se formaron 2 series de estudio (control [SI] y tratada con L-carnitina [SII]). El personal de estabulario asignó los perros, de modo consecutivo, a cada una de las series, sin utilizar ningún método específico de ocultación de la distribución, la SI, o serie control (6 perros), con peso medio de  $20,7 \pm 3,3$  kg (4 machos) y la SII, o serie carnitina (6 perros), con peso medio de  $22,7 \pm 6,4$  kg (4 machos). En esta serie se administró L-carnitina a dosis de 250 mg/kg de peso por vía oral en 2 dosis diarias, desde 7 días previos a la realización del protocolo isquémico inductor del aturdimiento y durante el seguimiento hasta el día en que el animal era sacrificado. Para la obtención de muestras de tejido miocárdico y realización del estudio de ultraestructura miocárdica se sacrificaron 2 animales de cada serie en el día considerado como basal, sin realización de protocolo isquémico, a las 24 h tras realizar el protocolo isquémico y a los 10 días del protocolo isquémico.

### Preparación experimental

Se indujo la anestesia con pentobarbital sódico (30 mg/kg), succinilcolina (0,5 mg/kg) y cloruro mórfito (0,01 g/5 kg), y se mantuvo una perfusión continua intravenosa de succinilcolina (0,4 mg/h) y cloruro mórfito (2,4 mg/h). Tras la intubación se mantuvo la ventilación con un respirador volumétrico Temel, con una mezcla de oxígeno (60%) y protóxido de nitrógeno (40%).

Se realizó toracotomía lateral izquierda en el quinto espacio intercostal y, tras la pericardiectomía, se procedió a la disección de la arteria coronaria descendente anterior (DA) en su tercio proximal, pasando un lazo para posibilitar la realización

de oclusiones con una pinza vascular; en la misma arteria se situó un medidor ultrasónico de flujo Transonic Systems. Para el control de contractilidad miocárdica segmentaria se implantó un par de cristales ultrasónicos en el subendocardio de la zona a isquemizar. Para el control de la presión ventricular izquierda (PVI) se implantó un catéter a través de la pared libre del ventrículo izquierdo. Se realizó monitorización continua del electrocardiograma (ECG) y de la contracción segmentaria.

El protocolo isquémico consistió en 20 oclusiones completas de DA de 2 min de duración seguidas cada una de ellas por 3 min de reperfusión, protocolo que provoca aturdimiento miocárdico<sup>4,5</sup>. Una vez finalizado éste, se procedió al cierre del tórax y a través de pared torácica se exteriorizaron los cables de los cristales ultrasónicos para hacer posible la monitorización diaria de la contractilidad miocárdica segmentaria hasta el día 10 tras el protocolo isquémico. El último día del estudio según el protocolo dispuesto (día basal, 24 h, 10 días tras el protocolo isquémico) el animal era anestesiado de nuevo y, tras la apertura del tórax y la medición de los parámetros de la función cardíaca general (ECG, PVI), regional y el flujo coronario, era sacrificado por inducción eléctrica de fibrilación ventricular; tras la extracción del corazón se obtuvieron las muestras de tejido miocárdico correspondientes a la zona isquemizada y a la zona control, que eran procesadas y almacenadas para su posterior estudio.

### Parámetros analizados

Se controlaron diariamente los parámetros electrocardiográficos y de contractilidad miocárdica segmentaria. El estudio correspondiente a la función cardíaca se ha publicado previamente<sup>15</sup>. La presión sistólica del ventrículo izquierdo (PVI) y el flujo coronario en DA se monitorizaron el día en que se realizó el protocolo isquémico y el día en que finalizó el estudio.

En todos los casos se obtuvieron muestras de sangre venosa periférica para la determinación de las concentraciones de carnitina libre, adenosín trifosfato (ATP), piruvato y lactato. Las extracciones se realizaron antes de comenzar la administración de L-carnitina (serie carnitina), el día de la realización del protocolo isquémico (antes e inmediatamente después de éste), a las 24 h de la realización del protocolo isquémico y a los 10 días de éste. Las muestras de sangre se recogieron en tubos EDTA-Vacutainer, se centrifugaron a 3.000 rpm durante 10 min y el plasma obtenido se congeló a -80 °C, hasta el momento de ser procesada para el análisis bioquímico. Los valores de carnitina libre se cuantificaron con el método de McGarry y Foster<sup>16</sup>.

El ATP se determinó utilizando una técnica enzimática que permite cuantificar ATP mediante la utilización de los enzimas fosfoglicerocinasa (PGK) y gliceraldehído deshidrogenasa (GADP). La diferencia de absorbancia que resulta de la oxidación de NADH a NAD permite cuantificar el ATP presente en el plasma (Sigma Diagnostics). El piruvato y el lactato se cuantifi-

can mediante un procedimiento enzimático basado en la reducción de NAD a NADH, por la lactato deshidrogenasa (LDH). El cambio de absorbancia debida a la reducción del sustrato permite medir sus valores en plasma (Sigma Diagnostics).

Para la realización del examen microscópico al finalizar cada experimento, y tras sacrificar el animal con provocación de fibrilación ventricular mediante aplicación de un tren de estímulos de alta frecuencia en un área de miocardio ventricular alejada de la zona de obtención de muestras, se obtuvieron en cada caso muestras de tejido miocárdico de la zona sometida a isquemia y de una zona control. De cada muestra se obtuvieron secciones semifinas (1,5 μm), que se tiñeron con azul de toluidina al 0,5% durante 1 min para su observación con microscopía óptica (400, 1.000).

Asimismo, las muestras obtenidas se procesaron para su inclusión en resina Epon, el estudio de la ultraestructura con microscopio electrónico se realizó a partir de cortes ultrafinos (60 nm) recogidos en rejillas de cobre y contrastados con una solución de acetato de uranilo al 5% y citrato de plomo al 2,7%. La observación de las muestras se llevó a cabo con microscopio electrónico de transmisión (Phillips 301 EM) en rango de magnificación de 7.000 a 15.000 aumentos. El método de muestreo<sup>17</sup> consistió en escoger al azar 3 bloques de cada 6 de muestra incluida, de los cuales se obtienen secciones ultrafinas para su posterior análisis.

Se han valorado cuantitativamente los diferentes parámetros de lesión celular que incluyen: mitocondrias lesionadas (vacuolas, rotura de membrana con salida de contenido mitocondrial y desorganización de crestas mitocondriales); fusiones (mitocondria que ocupa más de un sarcómero contiguo); emparejamientos (más de una mitocondria por sarcómero), y gránulos de lipofuccina.

### Análisis estadístico

Los resultados se presentan como porcentajes en el estudio de ultraestructura, y los parámetros de función cardíaca y bioquímicos como medias ± desviaciones estándar. Se ha aplicado el análisis de comparación de porcentajes<sup>18</sup> con los valores del estudio de estructura y en las variables cuantitativas, tras comprobación de normalidad de la distribución con la prueba de Kolmogorov-Smirnov, se realizó comparación de medias mediante la prueba de la t de Student para muestras dependientes o independientes, según el caso. Se consideró como intervalo de confianza el 95%, considerando las diferencias estadísticamente significativas cuando  $p < 0,05$ .

### Resultados

En la tabla 1 se muestran los valores medios de la frecuencia cardíaca, la presión del ventrículo iz-

**Tabla 1. Parámetros de función global**

	FC (lat/min)		PVI (mmHg)		F1.DA (ml/min)	
	SI	SII	SI	SII	SI	SII
Basal	129 ± 18,1	128 ± 21,2	149 ± 16,8	150 ± 24,6	27,7 ± 3,2	29,2 ± 2,5
Tras PI	134 ± 20,1	125 ± 24,9	148 ± 14,6	128 ± 12,1	37,4 ± 5,4 <sup>b</sup>	36,4 ± 4,5
10 días	142 ± 8,7	143 ± 15,5	154 ± 8,6 <sup>a</sup>	148 ± 19,4	25,1 ± 3,6	30,0 ± 3,2

Análisis estadístico: comparación de medias con el test de la t de Student.

<sup>a</sup>p < 0,05; <sup>b</sup>p < 0,01 comparación intraserie respecto a valor basal.

FC: frecuencia cardíaca; PVI: presión del ventrículo izquierdo; F1.DA: flujo arteria coronaria descendente anterior; PI: protocolo isquémico; SI: serie control (n = 6); SII: serie carnitina (n = 6).

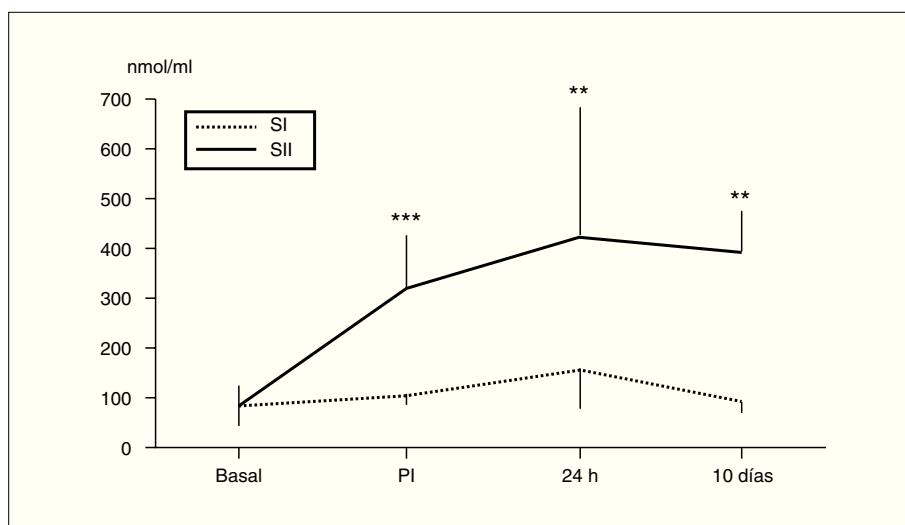


Figura 1. Se muestran las concentraciones plasmáticas de carnitina libre en la serie I (SI), o serie control ( $n = 6$ ), y en la serie II (SII), o serie carnitina ( $n = 6$ ). PI: protocolo isquémico. Análisis utilizado: comparación de medias con el test de la t de Student. Significación estadística intraserie respecto al valor basal. \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ .

quierdo y el flujo de la arteria coronaria DA de ambas series. Los valores y comportamiento de estos parámetros fueron similares sin diferencias significativas entre las 2 series.

La medición en sangre venosa periférica de los valores de carnitina libre mostró en los animales tratados con L-carnitina oral un incremento significativo de los valores de carnitina desde el comienzo de la administración ( $104,7 \pm 23,5$  nmol/ml en la SI frente a  $320 \pm 102,3$  nmol/ml en la SII;  $p < 0,001$ ) y durante todo el seguimiento; a las 24 h de la realización del protocolo isquémico los valores se incrementan en ambas series ( $152,9 \pm 74,4$  nmol/ml en la SI frente a  $428,3 \pm 253$  nmol/ml en la SII;  $p < 0,01$ ); a los 10 días del protocolo isquémico vuelven a valores similares a los basales ( $98 \pm 41$  nmol/ml en la SI frente a  $394,9 \pm 87$  nmol/ml en la SII;  $p < 0,01$ ) (fig. 1).

No se observan diferencias significativas en los valores plasmáticos de ATP, lactato y piruvato entre ambas series en las distintas fases del estudio (fig. 2).

La realización del protocolo isquémico no produce variaciones significativas en los valores de ATP. Los valores de piruvato se incrementan significativamente en ambas series, con la realización de las isquemias respecto a los valores basales (SI:  $187,1 \pm 43,4$  mmol/l frente a  $268,4 \pm 100,7$  mmol/l [ $p < 0,001$ ]; SII:  $226,3 \pm 99,6$  mmol/l frente a  $403,2 \pm 214,7$ ) y se mantienen elevados hasta el día 10 tras el protocolo isquémico (SI:  $226,9 \pm 53,5$  mmol/l [ $p = 0,04$ ]; SII:  $242,9 \pm 94,2$  mmol/l). Los valores plasmáticos de lactato descienden de forma significativa en ambas series con la realización del protocolo isquémico respecto a los valores basales (SI:

$403,9 \pm 82,3$  mmol/l frente a  $235,4 \pm 100,9$  mmol/l [ $p < 0,001$ ]; SII:  $443,5 \pm 160,4$  frente a  $201,6 \pm 82,9$  mmol/l [ $p = 0,01$ ]) y se mantienen bajos el día 10 de seguimiento (SI:  $296,9 \pm 111,5$  mmol/l [ $p = 0,008$ ]; SII:  $330,3 \pm 157,9$  mmol/l [ $p = 0,01$ ]) (fig. 2).

Al estudiar el tejido miocárdico a microscopía óptica no se observaron alteraciones morfológicas ni en las muestras de tejido sometidas a isquemias breves y repetidas ni en las zonas de tejido no sometidas a isquemia. Sin embargo, la microscopía electrónica muestra alteraciones morfológicas en la estructura de las mitocondrias que se resumen en la rotura de membranas, el aclaramiento de la matriz, la desorganización de las crestas, y que señalamos como lesiones mitocondriales. Otras alteraciones cuantificadas han sido las fusiones mitocondriales o la disposición intersarcómberos de las mitocondrias, los emparejamientos o la presencia en un mismo sarcómero de 2 o más mitocondrias y la aparición de gránulos de lipofuccina (fig. 3).

En condiciones basales (SI), ya se observa un cierto porcentaje de lesiones mitocondriales (13,4%), de fusiones (8,1%), de mitocondrias emparejadas (14,6%) y de gránulos de lipofuccina (0,26%). No existen, en esta fase del estudio, diferencias entre las distintas zonas del miocardio tanto en la SI como en la SII. La SII con carnitina mostró un incremento significativo respecto a la SI de las mitocondrias emparejadas (el 36,2 frente al 14,6%;  $p < 0,001$ ) y menos fusiones (el 7,03%;  $p < 0,001$ ).

La realización del protocolo isquémico da lugar a cambios en ambas series. En la SI a las 24 h de las isquemias se observa un incremento de las mitocondrias lesionadas (el 54%;  $p < 0,001$ ), de las fu-

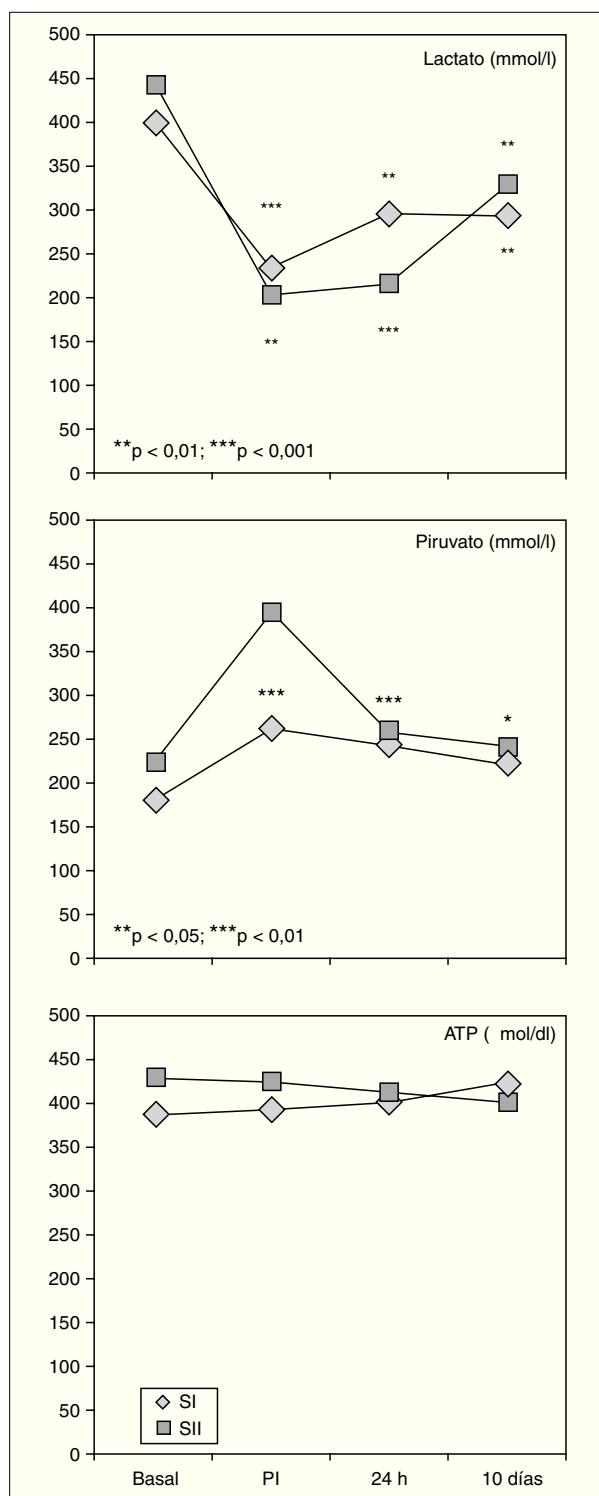


Figura 2. Se muestran las concentraciones plasmáticas de piruvato, lactato y adenosín trifosfato (ATP) en la serie I (SI), o serie control ( $n = 6$ ), y en la serie II (SII), o serie carnitina ( $n = 6$ ), en las distintas fases del estudio. No hubo diferencias significativas entre ambas series. PI: protocolo isquémico.

Ánalisis utilizado: comparación de medias con el test de la t de Student. Significación estadística intraserie respecto al valor basal.

siones (el 15%;  $p < 0,001$ ) y de los gránulos de lipofuccina (el 1%;  $p < 0,01$ ) y un decremento de las mitocondrias emparejadas (el 12,5%;  $p < 0,05$ ). A los 10 días del protocolo isquémico se mantienen elevados los porcentajes de daño mitocondrial (el 18,1%;  $p < 0,001$ ) y los gránulos de lipofuccina (el 2,7%;  $p < 0,001$ ) respecto al valor basal, mientras que tanto las fusiones (1,3%) como las mitocondrias emparejadas (9,5%) aparecen en menor porcentaje. La SII presenta también un incremento de las mitocondrias dañadas a las 24 h del protocolo isquémico (el 15,8 frente al 24,7%;  $p < 0,001$ ) y que se mantiene elevado a los 10 días (22,2%), hay mayor porcentaje de fusiones (el 7,03% basal frente al 24,7% a las 24 h y el 36% a los 10 días), menos mitocondrias emparejadas (24,7%) pero que a los 10 días se han elevado (el 45,3%;  $p < 0,001$ ) y no hay variaciones significativas en el porcentaje de gránulos de lipofuccina.

Cuando se comparan las SI y II se ve que el daño mitocondrial producido por las isquemias es significativamente menor en la serie de carnitina (el 54 frente al 24,7%;  $p < 0,001$ ), y se iguala a los 10 días; hay más fusiones y más emparejamientos en presencia de carnitina y tras las isquemias, y hay menos gránulos de lipofuccina (fig. 3).

## Discusión

El corazón es un órgano que no deja de trabajar y, para ello, requiere energía, que proviene del metabolismo oxidativo con la generación de una gran cantidad de ATP. El metabolismo oxidativo es tan importante que aproximadamente un tercio de la masa celular miocárdica está compuesta por mitocondrias<sup>19</sup>.

Los ácidos grasos pasan al interior de la mitocondria, donde se realiza la betaoxidación y generación de ATP mediante la intervención de enzimas cuyo sustrato es la carnitina. La disponibilidad miocárdica de carnitina es esencial por 2 motivos: la producción de energía y evitar la acumulación de ácidos grasos. Una disminución de la concentración de carnitina libre como sucede en algunas circunstancias, como la isquemia miocárdica, ocasionaría una acumulación extramitocondrial de productos intermedios del metabolismo lipídico y sus consecuencias<sup>20,21</sup>.

En diversas situaciones, como la isquemia<sup>22,23</sup>, el infarto agudo de miocardio<sup>24,25</sup> y la insuficiencia cardíaca<sup>26</sup>, se ha observado una depleción de los valores plasmáticos de carnitina, y se ha demostrado en muchos casos que la administración exógena de carnitina puede restaurar sus valores intramio-cárdicos, con la consiguiente recuperación funcio-

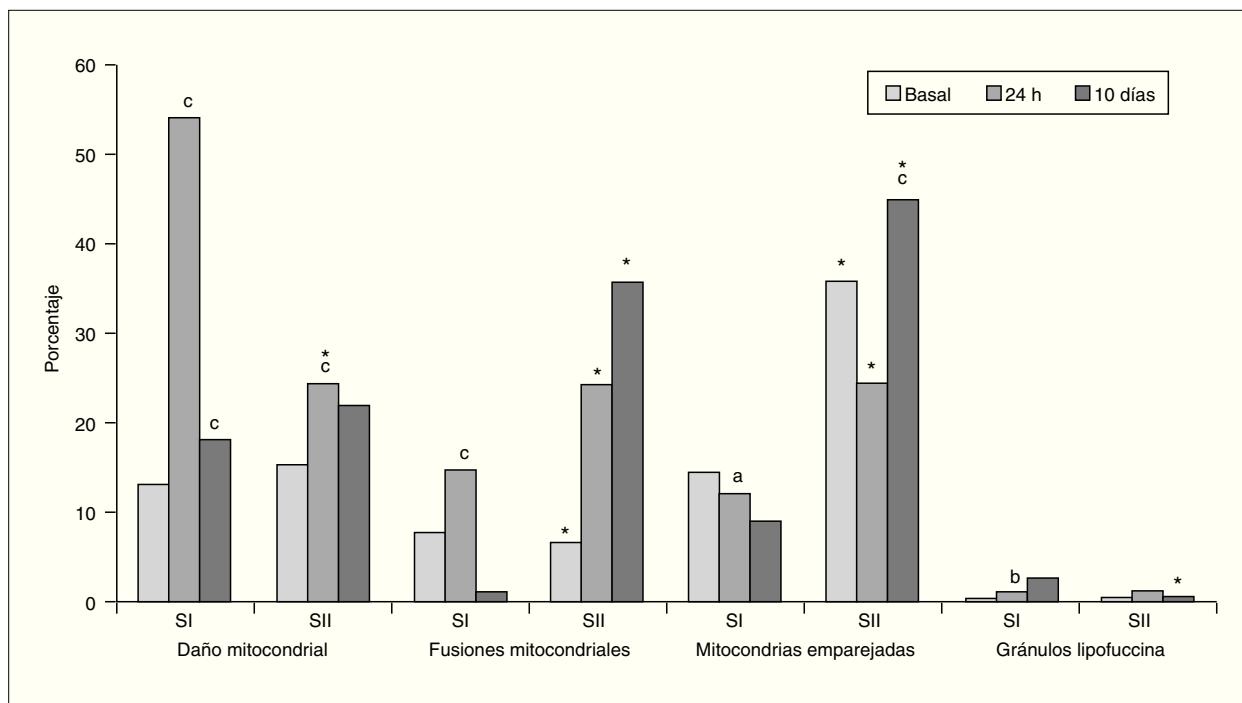


Figura 3. Se muestran los valores de daño mitocondrial, fusiones mitocondriales, mitocondrias emparejadas y gránulos de lipofuccina en la serie I (SI), o serie control ( $n = 6$ ), y en la serie II (SII), o serie carnitina ( $n = 6$ ), en situación basal (SI,  $n = 2$ ; SII,  $n = 2$ ), a las 24 h del protocolo isquémico (SI,  $n = 2$ ; SII,  $n = 2$ ) y a los 10 días de éste (SI,  $n = 2$ ; SII,  $n = 2$ ). Se comparan los valores intraserie respecto al valor basal y entre series. Análisis utilizado: comparación de porcentajes observados. \* $p < 0,001$  comparación entre series; <sup>a</sup> $p < 0,05$ ; <sup>b</sup> $p < 0,01$ ; <sup>c</sup> $p < 0,001$ , comparación respecto al valor basal.

nal del miocardio<sup>27-31</sup>. Esto es lo que hemos observado en nuestro modelo, en el que, tras el cese de las isquemias, se produce una recuperación casi inmediata de la función contráctil miocárdica que se acompaña de un menor daño de las mitocondrias y una mayor actividad de éstas<sup>15</sup>. Algunos autores han observado un efecto antiapoptótico de la L-carnitina en el músculo estriado<sup>32</sup>.

En este estudio hemos aplicado un protocolo isquémico, de isquemias muy breves y repetidas con períodos de reperfusión entre ellas, que da lugar a afección de la contractilidad regional<sup>15</sup>, pero en el que se producen cambios mínimos de los valores de ATP y no se produce elevación de lactato. El estado energético de los miocitos se regulariza una vez que se produce la adaptación a la isquemia, a pesar de que persistan alteraciones de la contractilidad<sup>33</sup>. En estudios de corazón hibernado hay una alteración metabólica inicial con la isquemia pero luego se normaliza, probablemente debido a precondicionamiento isquémico<sup>34</sup>.

En nuestro modelo hay que resaltar que los valores de ATP, lactato y piruvato se han medido en

plasma de sangre venosa periférica, por lo que los resultados no reflejan sólo los cambios del miocardio sino también los del metabolismo global.

Con el proceso isquémico se produce una disminución de los valores de lactato y un incremento de piruvato en sangre periférica, y tras la isquemia se normalizan los valores de ambos parámetros. La presencia de valores elevados de carnitina no produjo cambios en este comportamiento. La no existencia de cambios significativos en los valores de ATP y la recuperación de las concentraciones de piruvato y lactato tras la isquemia hablan de la baja agresividad del modelo de isquemias breves y repetidas con reperfusiones entre ellas, como también lo demuestra la recuperación estructural de las mitocondrias.

En el análisis de ultraestructura miocárdica y, más concretamente, en las mitocondrias que es donde los valores elevados de carnitina ejercerán su acción directa, se observó que en la serie con carnitina en situación basal existía mayor actividad mitocondrial, con un aumento del porcentaje de mitocondrias emparejadas y fusionadas. La isque-

mía da lugar a alteraciones mitocondriales, que se traducen en lo que hemos denominado daño mitocondrial y que a las 24 h del estudio es muy superior en la serie de control, mientras que la serie tratada con carnitina mantiene una actividad mitocondrial mayor durante todo el estudio. En este modelo se producen alteraciones mitocondriales que podrían ser el sustrato patológico de la disfunción contráctil que se observa en el miocardio aturdido. Estas alteraciones impiden que las fibras afectadas se contraigan con normalidad y mejoran conforme se recupera el daño mitocondrial (a los 10 días está estructuralmente recuperado).

Esta situación de menor daño y mayor actividad mitocondrial confirma el efecto cardioprotector de la carnitina, que apenas parece notar el efecto de la isquemia, lo que se traduce en la función contráctil regional de la zona sometida al protocolo isquémico. La L-carnitina ejerce un efecto positivo funcional y estructural en el miocardio isquémico y en el miocardio aturdido.

## Bibliografía

- Braunwald E, Kloner RA. The stunned myocardium: prolonged ischemic ventricular dysfunction. *Circulation* 1982;66:1146-9.
- Heyndrich GR, Millard RW, McRitchie RJ, Maroko PR, Vatner SF. Regional myocardial functional and electrophysiological alterations after brief coronary artery occlusion in conscious dogs. *J Clin Invest* 1975;56:978-85.
- Geft IL, Fishbein MC, Ninomiya K, Hashida J, Chaux E, Yano L, et al. Intermittent brief periods of ischemia have accumulative effects and may cause myocardial necrosis. *Circulation* 1982;66:1150-3.
- Pomar F, Cosín J, Portolés M, Faura M, Renau J, Hernández A, et al. Functional and ultrastructural alterations on canine myocardium subjected to very brief coronary occlusions. *Eur Heart J* 1995; 16:1482-90.
- Pallarés V, Hernández A, Cosín J, Portolés M, Capdevila C, Pomar F, et al. Evolución a lo largo de 10 días de un modelo de miocardio aturdido mediante isquemias muy breves y repetidas. *Rev Esp Cardiol* 1997;50:254-9.
- Martí S, Pallarés V, Capdevila C, Hernández A, Portolés M, Cosín J. Precondicionamiento isquémico. Conocimientos actuales y perspectivas. *Clin Cardiovasc* 1998;16:29-34.
- Bolli R. Mechanisms of myocardial "stunning". *Circulation* 1990; 82:723-38.
- Bolli R. Myocardial "stunning" 20 years later: a summary of current concepts regarding its pathophysiology, pathogenesis, and clinical significance. *Dial Cardiovasc Med* 1996;1:5-26.
- Bremer J. Carnitine. Metabolism and function. *Physiol Rev* 1983; 63:1420-80.
- Harper P, Wadström C, Cederblad G. Carnitine measurements in liver, muscle tissue, and blood in normal subjects. *Clin Chem* 1993; 39:592-9.
- Fritz IB, Kaplan E, Yue KTN. Specificity of carnitine action on fatty acid oxidation by heart muscle. *Am J Physiol* 1962;202:117-21.
- Bartels GL, Remme WJ, Scholte HR. Acute myocardial ischaemia induces cardiac carnitine release in man. *Eur Heart J* 1997;18:84-90.
- Kellec VA, Toporoff B, Raziano RM, Pigott JD, Mills NL. Carnitine supplementation improves myocardial function in hearts from ischemic diabetic and euglycemic rats. *Am Thorac Surg* 1998;66: 1600-3.
- Yamada KA, Mchowat J, Yan GX, Donahue K, Peirick J, Kléber AG, et al. Cellular uncoupling induced by accumulation of long-chain acylcarnitine during ischemia. *Circ Res* 1994;74:83-95.
- Hernández A, Pallarés V, Cosín J, Andrés F, Capdevila C, Portolés M. Efectos de L-carnitina sobre la función regional del miocardio aturdido por isquemias de muy breve duración. *Rev Esp Cardiol* 1997;50:650-7.
- McGarry JD, Foster DW. An improved and simplified radioisotopic assay for the determination of free and esterified carnitina. *J Lipid Res* 1976;17:277-81.
- Cruz Orive LM, Weibel ER. Sampling designs for stereology. *J Microsc* 1981;122:235-7.
- Schwartz D. Comparison de deux pourcentages observes. Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes. Paris: Flammarion Medicine Sciences, 1975; p. 55-62.
- Ferrari R, Opie LH. Atlas of the myocardium. New York: Raven Press, 1992.
- Fritz IB, Kaplan E, Yue KTN. Specificity of carnitine action on fatty acid oxidation by heart muscle. *Am J Physiol* 1962;202:117-21.
- Heathers GP, Su CM, Adames VR, Higgins AJ. Reperfusion-induced accumulation of long-chain acylcarnitines in previously ischemic myocardium. *J Cardiovasc Pharmacol* 1993;22:857-62.
- Suzuki Y, Kawakawa T, Kobayashi A, Masumura Y, Yamazaki N. Effects of L-carnitine on tissue levels of acyl-carnitine, acyl coenzyme A and high energy phosphate in ischemic dog hearts. *Jpn Circ J* 1981;45:687-94.
- Vogel WM, Bush LR, Cavallo GC, Heathers GP, Hirkaler GM, Koza MZ, et al. Inhibition of long-chain acylcarnitine accumulation during coronary artery occlusion does not alter infarct size in dogs. *J Cardiovasc Pharmacol* 1994;24:826-32.
- Mouhieddine S, Leiris J. Cardioprotective effect of L-carnitine in rats submitted to permanent left coronary artery ligation. *Arch Inter Physiol Biochem Biophys* 1993;101:411-6.
- Rizzon P, Biasco G, Boschia F, Rizzo U, Minafra F, Burtone A, et al. High doses of L-carnitine in acute myocardial infarction: metabolic and antiarrhythmic effects. *Eur Heart J* 1989;10:502-8.
- Suzuki Y, Masumura Y, Kobayashi A, Yamakazi N, Harada Y, Osawa M. Myocardial carnitine deficiency in chronic heart failure. *Lancet* 1982;1:116.
- Sethi R, Dhalla KS, Ganguly PK, Ferrari R, Dhalla N. Beneficial effects of propionyl L-carnitine on sarcolemmal changes in congestive heart failure due to myocardial infarction. *Cardiovasc Res* 1999;42:607-15.
- Colonna P, Illiceto S. Myocardial infarction and left ventricular remodelling: results of the CEDIM trial. *Carnitine Ecocardiografia Digitalizzata Infarto Miocardico*. *Am Heart J* 2000;139:S124-30.
- Retter AS. Carnitine and its role in cardiovascular disease. *Heart Dis* 1999;1:108-13.
- Lango R, Smolenski RT, Narkiewics M, Suchorzewska J, Lysiak-Szydlowska W. Influence of L-carnitine and its derivatives on myocardial metabolism and function in ischemic heart disease and during cardiopulmonary bypass. *Cardiovasc Res* 2001;51:21-9.
- Pauly DF, Pepine CJ. The role of carnitine in myocardial dysfunction. *Am J Kidney Dis* 2003;41(4 Suppl 4):S35-43.
- Vescovo G, Ravara B, Gobbo V, Sandri M, Angelini A, Della Barbera M, et al. L-Carnitine: a potential treatment for blocking apoptosis and preventing skeletal muscle myopathy in heart failure. *Am J Physiol Cell Physiol* 2002;283:C802-10.
- Arai AE, Gruer SE, Anselone ChG, Pantely GA, Bristow JD. Metabolic adaptation to a gradual reduction in myocardial blood flow. *Circulation* 1995;92:244-52.
- Ferrari R, Cargnoni A, Bernocchi P, Pasini E, Curello S, Ceconi C, et al. Metabolic adaptation during sequence of no-flow and low-flow ischemia. *Circulation* 1996;94:2587-96.