

## El estrés oxidativo en el proceso de isquemia/reperfusión

RICARDO FERREIRA\*, JOSE MILEI\*\*

\* Servicio de Cirugía Cardiovascular (ECAVI), Policlínico Bancario. \*\* División Cardiología, Hospital Fernández y CARDIOPSIS, Buenos Aires

Trabajo recibido para su publicación: 7/92. Aceptado: 10/92

Dirección para separatas: Dr. Ricardo Ferreira, O'Higgins 1780, (1602) Florida, Pcia. de Buenos Aires, Argentina

Independientemente de la causa (trombosis, espasmo persistente, embolia, rotura de placa arteriosclerótica, isquemia quirúrgica prolongada, complicación de angioplastia, etc.), la isquemia/reperfusión a nivel miocárdico produce una serie de alteraciones entre las que se encuentra la producción de radicales libres del oxígeno. Existe suficiente evidencia para implicar (al menos en gran parte) a una producción descontrolada de radicales libres del oxígeno como factores causales del daño de reperfusión. En esta revisión los autores explican la bioquímica y metodología de estudio de los radicales libres del oxígeno, así como la fisiopatología de la isquemia/reperfusión, las arritmias posreperfusión y los resultados experimentales y clínicos con el uso de agentes antioxidantes (superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa, vitaminas A y E, manitol, deferoxamina y taurina).

Desde que Hearse describiera en la década del 70 el fenómeno llamado "paradoja del oxígeno", se ha desarrollado una extensa investigación sobre este mecanismo tratando de dilucidar su fisiopatología.<sup>1</sup> Lo que este autor esencialmente describió es el fenómeno por el cual un tejido sometido a un período de isquemia sufre mayor daño estructural y funcional cuando se lo reperfunde. Esta condición, que se relaciona con la fisiopatología del miocardio "atontado" y que explica las elevaciones enzimáticas luego de una terapia trombolítica efectiva y otras alteraciones de la reperfusión, es consecuencia en gran parte del llamado **estrés oxidativo**.

### LOS RADICALES LIBRES DEL OXIGENO

Dentro de las distintas estructuras de la célula y sobre todo en el sistema de transporte de electrones de la cadena mitocondrial, en la que se produce una reducción tetravalente del oxígeno con formación de H<sub>2</sub>O como producto final, se generan en muy pequeña proporción radicales libres del oxígeno (RL). Se llaman así porque poseen uno o más electrones desapareados, condición que le confiere a la molécula una alta inestabilidad, sustrayéndole un electrón a una molécula vecina, oxidándola y transformándola a su vez en un RL. Este proceso puede afectar a cualquier estructura celular y en la

tabla 1 se resumen dichas interacciones. Las más afectadas son las membranas celulares muy ricas en ácidos grasos poliinsaturados, sobre los cuales los RL producen una reacción en cadena o autocatalítica denominada **lipoperoxidación**.<sup>2,3</sup> Se conocen dos RL derivados del O<sub>2</sub> que son el anión superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) y el radical hidroxilo (OH). El H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> no es estrictamente un RL, pero debido a su capacidad de formar OH junto con el O<sub>2</sub><sup>-</sup> también se lo cataloga como RL. El OH, el más citotóxico de todos los RL, se forma a partir de aquellos en presencia de hierro que actúa como catalizador.<sup>4,5</sup> La capacidad de daño que posee el OH radica básicamente en que, a diferencia de los otros RL, no existen defensas celulares capaces de neutralizarlo.

Una vez desencadenado el proceso de lipoperoxidación, se forman radicales de ácidos grasos que a su vez dañan nuevas cadenas lipídicas. En estas reacciones es igualmente importante la presencia de hierro como acelerador de las mismas.<sup>4,6</sup> La célula posee una amplia batería de defensas constituidas por enzimas y sustancias cuyo mecanismo de acción neutralizante o *scavenger* se describe más adelante. Las defensas celulares contra los RL se alteran por diversos factores de riesgo, en particular el tabaco, estrés y dietas inadecuadas y muy abun-

dantes en hierro. Ciertas drogas, la contaminación ambiental con plomo, radiaciones, etc., aumentan la generación de RL. Una extensa bibliografía ha demostrado la implicancia de estas moléculas tóxicas en el envejecimiento y las enfermedades de esta etapa (tumores, diabetes, arteriosclerosis, artritis y cataratas), procesos inflamatorios, enfermedades autoinmunes, etc. (tabla 2).

En esta reseña sólo nos ocuparemos de desarrollar la relación existente entre los RL y el mecanismo de isquemia/reperfusión. Esta relación, por supuesto, no es patrimonio del tejido miocárdico y se verifica en cualquier otra estructura del organismo sometida a una interrupción transitoria del aporte circulatorio y su posterior restauración. En este aspecto se destacan las numerosas investigaciones sobre isquemia cerebral y hepática. Aquí desarrollaremos exclusivamente el mecanismo isquemia/reperfusión a nivel del miocardio.

### FISIOPATOLOGIA DE LA ISQUEMIA/REPERFUSION MIOCARDICA

Sin considerar la causa (trombosis, espasmo persistente, embolia, rotura de placa arteriosclerótica, isquemia quirúrgica prolongada, complicación de la angioplastia, etc.), la suspensión brusca de sangre en el miocardio produce una serie de alteraciones que en forma sucinta son:

1) Pasaje del metabolismo aeróbico con consumo de ácidos grasos esterificados a un metabolismo glucolítico anaeróbico. Mientras que el metabolismo aeróbico produce 36 moles de ATP fundamentalmente a expensas de la fosforilación oxidativa, la glucólisis anaeróbica produce sólo 2 moles de ATP con generación de ácido láctico, sin alcanzar a cubrir el metabolismo basal de la célula.<sup>7</sup>

2) Caída progresiva del ATP, ADP y AMP con acúmulo de protones en el citoplasma y descenso del pH.

3) Inhibición de los procesos enzimáticos ATP-dependientes y de las enzimas antioxidantes. Ingreso del Na<sup>+</sup> y en consecuencia del Ca<sup>++</sup> por inversión del flujo del transportador Na<sup>+</sup>/Ca<sup>++</sup>. Se considera que tanto la caída del pH como la depleción de ATP son fenómenos posteriores a la alteración de la función contráctil y que el mecanismo determinante que lleva a daño celular irreversible es el ingreso descontrolado de calcio en la célula.<sup>8</sup> La sobrecarga de calcio produce una serie de eventos caracterizados por hipercontractura, depresión del ATP y del metabolismo mitocondrial con parálisis

Tabla 1  
Interacción entre los RL y las estructuras de la célula

Estructura	Interacción
Aminoácidos	Desnaturalización de las proteínas, entrecruzamiento de las cadenas e inhibición enzimática
Bases de ácidos nucleicos	Cambios en los ciclos celulares, mutaciones
Hidratos de carbono	Cambios en los receptores de superficie
Lípidos poliinsaturados	Lipoperoxidación
Cofactores	Disminución de la disponibilidad y actividad de los cofactores que contienen flavina y nicotinamida
Neurotransmisores	Disminución de la actividad y disponibilidad
Proteínas	Desnaturalización y división de las cadenas
ADN	Sección de la cadena
Acido hialurónico	Despolimerización

Fuente: Freeman BA: Biology of disease. Free radicals and tissue injury. Lab Invest 1982; 47: 412.

de las bombas iónicas y formación de edema intracelular. La etapa terminal y que determina la muerte de la célula es la rotura del sarcolema.

Existen pruebas de que los RL también alteran el equilibrio del calcio y contribuyen para que éste ingrese en forma excesiva a la célula. Uno de los mecanismos sería la depresión de la función de la enzima Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> ATPasa, lo que contribuiría de manera indirecta a la sobrecarga de Ca<sup>++</sup> al elevarse los niveles intracelulares de Na<sup>+</sup>, invirtiéndose el flujo del transportador Na<sup>+</sup>/Ca<sup>++</sup>.<sup>25</sup>

Si el miocardio logra reperfundirse antes que el tejido se necrose (alrededor de los 30 minutos de isquemia), el ingreso de sangre oxigenada aumenta el daño histológico y la disfunción del área afectada, fenómeno que fue designado como la paradoja del oxígeno.

#### Lugar y forma en que se originan los RL

Existe suficiente evidencia para implicar (al menos en gran parte) a una producción descontrolada de RL como factor causal del daño de reperfusión. Uno de los aspectos aún no resueltos se refiere al lugar y forma en que se originan los RL. Al respecto existen las siguientes hipótesis:

A) El oxígeno encontraría en la reperfusión la cadena respiratoria mitocondrial fuertemente reducida, lo que genera una abundante cantidad del anión superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) que se dismuta en

$H_2O_2$  y difunde al citoplasma reaccionando con la mioglobina y produciendo el OH.<sup>9</sup>

B) La enzima xantino-deshidrogenasa, que por lo regular cataliza la reacción entre el  $H_2O$ , el NAD y las xantinas (estas últimas producto de degradación del ATP), produciendo NADH y ácido úrico, durante la isquemia vira a la forma oxidasa generando ácido úrico y  $O_2^-$ . A su vez, el  $O_2^-$  forma  $H_2O_2$  y de este último se formaría el OH. La existencia de este mecanismo se ha comprobado en investigaciones llevadas a cabo fundamentalmente con perros y ratas, mediante la protección miocárdica a través del pretratamiento con alopurinol y tungsteno. El alopurinol es un inhibidor por competencia de la xantino-oxidasa; el tungsteno, por su parte, previene la incorporación de molibdeno a la enzima, inactivándola.<sup>10-13</sup>

En el hombre, que posee concentraciones muy bajas de xantino-deshidrogenasa en el endotelio vascular del miocardio, este mecanismo parece poco probable o desempeñaría un papel despreciable. Se observa aquí que las experiencias en animales no son siempre extrapolables a los seres humanos.<sup>14</sup>

C) El tejido isquémico activa la cadena de complemento y libera el factor activador de las plaquetas o PAF (*platelet-activating factor*). Ambos producen activación y agregación de los neutrófilos en la zona afectada, en este caso el miocardio isquémico, liberando  $O_2^-$  y  $H_2O_2$ . Del mismo modo, a través de la enzima mieloperoxidasa se produce la combinación de  $Cl^-$  y  $H_2O_2$  para formar ácido hipocloroso, que es un potente oxidante.<sup>15-18</sup>

Varias evidencias involucran a los leucocitos como generadores de especies oxidantes: 1) se ha detectado liberación de PAF en el miocardio isquémico y a través del seno coronario.<sup>18, 19</sup> Los leucocitos comienzan a concentrarse en el tejido isquémico dentro de los 45 minutos de la oclusión coronaria y esta acumulación aumenta progresivamente con la reperfusión.<sup>20-22</sup> 2) Distintas técnicas para deprimir los leucocitos han logrado reducir la lesión de reperfusión, el miocardio "atontado" y el área de infarto.<sup>23, 24</sup>

D) El tejido endotelial puede generar RL vía óxido nítrico, uno de los principales componentes del factor de relajación endotelial. El óxido nítrico reacciona con el  $O_2$  para formar un compuesto altamente citotóxico que a su vez puede dar OH.<sup>25</sup>

#### Arritmias de reperfusión y vasoespasmo arterial

Se sabe que la reperfusión está asociada con

Tabla 2

Situaciones clínicas en las que estarían implicados los RL

<b>Isquemia/reperfusión</b>	<b>Tracto gastrointestinal</b>
Infarto de miocardio	Lesión hepática por endotoxinas
Trasplante de órganos	Lesión hepática por hidrocarburos halogenados
Accidente cerebrovascular	Terapia oral con hierro
<b>Sistema cardiovascular</b>	<b>Cerebro</b>
Cardiomiopatía alcohólica	Oxígeno hiperbárico
Arteriosclerosis	Parkinson
Cardiotoxicidad por adriamicina	Potenciación de daño postraumático
<b>Riñón</b>	<b>Ojo</b>
Síndromes nefróticos autoinmunes	Cataratas
Nefrototoxicidad de metales pesados	Daño degenerativo de la retina
<b>Tumores</b>	Retinopatía del prematuro
<b>Piel</b>	<b>Pulmón</b>
Radiación solar	Hiperoxia
Lesión térmica	Displasia broncopulmonar
Porfiria	Enfisema, tabaquismo
Dermatitis por contacto	<b>Terapias con hierro</b>
<b>Sistema osteoarticular</b>	Hemocromatosis idiopática
Artritis	Transfusiones múltiples

Fuente: Halliwell B: Oxygen radicals and human disease. Am Int Med 1987; 107: 527.

fibrilación ventricular, taquicardia ventricular, ritmos idioventriculares y extrasístoles ventriculares.<sup>26-28</sup> La lipoperoxidación del sarcolema se ha considerado un mecanismo potencial en estas arritmias de reperfusión. *In vitro* se objetivaron alteraciones del potencial de membrana y la formación y pasaje de corrientes transitorias ante la exposición de RL.<sup>29</sup> Se acepta en general que este tipo de corrientes son producidas por sobrecarga intracelular del calcio. También se demostró que dicha sobrecarga puede ser inducida, entre otras causas, por la acción de los RL. Burton y colaboradores observaron un aumento del calcio intracelular de hasta un 300 % en miocitos de rata por este mecanismo.<sup>30</sup> Entre las hipótesis por las cuales los RL favorecerían el aumento del calcio intracelular se esgrime el daño del sarcolema y con éste la reducción de la enzima  $Na^+-K^+$  ATPasa, que regula el intercambio transmembrana de estos iones. La reducción de esta enzima ha sido prevenida con el uso de antioxidantes.

La mayoría de la información que apoya el concepto de que los RL desempeñan un papel en las arritmias de reperfusión proviene de estudios *in vitro* sobre corazones de rata perfundidos. Bernier y colaboradores fueron quienes más

trabajaron sobre este tema.<sup>31-33</sup> Estos investigadores demostraron menor incidencia de fibrilación ventricular posreperusión mediante el empleo de diversos antioxidantes. En contraposición, el agregado de sistemas generadores de RL en el fluido de perfusión aumentaba la incidencia de arritmias. Resultados similares se obtuvieron en modelos *in vivo* utilizando superóxido dismutasa (SOD) y alopurinol, incluyendo otros modelos animales como el perro.<sup>34, 35</sup>

Un aspecto importante por su implicancia clínica es la función que desempeñarían los RL en la producción de vasoespasmo. El mecanismo del vasoespasmo es relativamente complejo e intervienen diversos factores, entre ellos: sustancias liberadas por lesión endotelial y la activación de las plaquetas con liberación de serotoninas y lipoxigenasa del metabolismo del ácido araquidónico. En cuanto al papel de los RL, se considera que: a) el anión superóxido inactiva un factor de relajación derivado del endotelio,<sup>36, 37</sup> b) el OH y los lipoperóxidos inhiben la síntesis de prostaciclina,<sup>38, 39</sup> y c) aumentan la activación de las plaquetas *in vitro*.<sup>40, 41</sup>

Laurindo y colaboradores, en un interesante trabajo realizado en perros, comprobaron que la SOD impedía el vasoespasmo posangioplastia. El mecanismo no se debería a una acción directa de la SOD, ya que la enzima *per se* no induce cambios en el endotelio intacto. Los autores también observaron que el uso de otros agentes antioxidantes como la deferoxamina y la catalasa, específicos para inhibir el OH y el H<sub>2</sub>O, eran incapaces de impedir el vasoespasmo posangioplastia. Dado que la SOD es un atrapador exclusivo del anión superóxido, se desprendería como conclusión que este RL sería el principal responsable en la génesis del vasoespasmo.<sup>42</sup>

#### METODOLOGIA DE ESTUDIO DE LOS RL

Por su característica atómica un RL es una molécula altamente inestable y su permanencia en el tiempo es singularmente efímera. El OH, por ejemplo, tiene una vida media de 10 a 9 segundos. Los radicales de ácidos grasos, que son productos de la lipoperoxidación, tienen vidas medias variables, algunas tan breves como la del HO. Otros llegan a durar hasta 7 segundos, un tiempo bastante prolongado para moléculas de esta especie.<sup>43</sup> Debido a su existencia extremadamente breve, la mayoría de las técnicas conocidas hasta el presente para detectar actividad de RL son métodos indirectos que cuantifican el daño producido por aquéllos, por lo

general basados en el grado de lipoperoxidación de los ácidos grasos poliinsaturados. La única técnica de cuantificación directa es la resonancia magnética nuclear y aun ésta debe aplicar un método indirecto que consiste en hacer reaccionar el RL con un compuesto nitroso formando un radical nitroso de mayor longitud de vida.

Por la variedad de métodos existentes se desprende que todavía no ha sido seleccionada la técnica de mayor especificidad y sensibilidad. Las más utilizadas hasta el presente son:

1. Resonancia magnética nuclear.<sup>44-47</sup>
2. Malondialdehído y ácido tiobarbitúrico.<sup>48-52</sup>
3. Lipoproteínas modificadas por la lipoperoxidación.<sup>53-55</sup>
4. Dienes conjugados de ácidos grasos.<sup>56-58</sup>
5. Dosaje de peróxido de hidrógeno.<sup>59-61</sup>
6. Concentración de glutatión en plasma.<sup>62-64</sup>
7. Dosaje de hidroperóxidos de los fosfolípidos.<sup>65-68</sup>
8. Quimioluminiscencia.<sup>69-72</sup>
9. Determinación de la disminución de los niveles de antioxidantes (glutatión, tocoferol, etc.).<sup>73-76</sup>

El concepto de medir el estrés oxidativo en seres humanos aún no está desarrollado en la práctica clínica. Es probable que con el tiempo la determinación cuantitativa del estrés oxidativo constituya una rutina de laboratorio para establecer el factor de riesgo ante determinadas enfermedades.<sup>77</sup>

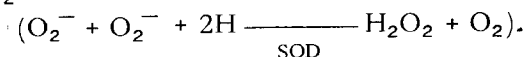
#### RESULTADOS EXPERIMENTALES Y CLINICOS CON EL USO DE AGENTES ANTIOXIDANTES

Las investigaciones realizadas apoyan en forma fehaciente la participación de los RL en el daño de reperusión y el miocardio "atontado" y esto se ha comprobado por: a) detección de RL en el seno coronario de corazones sometidos a un período de isquemia, b) administración de soluciones que generan RL y producen una depresión de la función miocárdica y c) administración de agentes antioxidantes o *scavengers* que reducen el daño de reperusión.

Entre los agentes más utilizados en los modelos experimentales, se destacan las enzimas antioxidantes: superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa.

**Superóxido dismutasa (SOD).** Enzima descubierta por Fridovich y naturalmente en abundancia en la célula, se distribuye en la mitocondria (forma manganeso-dependiente) y en el citosol (forma cobre-zinc-dependiente).<sup>78</sup> Su fun-

ción es acelerar en forma considerable la dismutación del  $O_2^-$  descomponiéndolo en  $H_2O_2$  y  $O_2$ :



A semejanza del resto de las enzimas, su actividad se ve sensiblemente afectada por la isquemia. Los trabajos con SOD a nivel experimental dieron resultados satisfactorios en algunos casos<sup>79-82</sup> y controvertidos en otros.<sup>83-88</sup> Se desconocen las causas de esta discrepancia en los distintos diseños experimentales. Según Kloner, podría deberse a diferencias importantes en los tiempos de isquemia y en el grado de flujo colateral para cada caso en particular.<sup>86</sup>

**Catalasa.** Abundante en los peroxisomas de la célula, esta enzima cataliza la descomposición del  $H_2O_2$  en  $H_2O$  y  $O_2$ . Empleada en el animal o en el corazón *in vitro*, ha demostrado aumentar la preservación del miocardio. En la mayoría de las experiencias se la administró junto con la SOD, lo que dificulta determinar su eficacia en forma independiente. No obstante, Myers y colaboradores, en un estudio comparativo, observaron mayor efectividad con la catalasa.<sup>87</sup>

**Glutación peroxidasa.** Esta enzima cataliza las reacciones de los hidroperóxidos generados durante la lipoperoxidación. El glutación reducido es oxidado con formación de un producto reducido del peróxido. Su acción es más amplia que las anteriores porque utiliza diversos sustratos y no se inhibe por las altas concentraciones de RL ni el descenso del pH.<sup>88, 89</sup> Otros trabajos han enfocado la actividad antioxidante de esta enzima potenciándola a través de sus sustratos, fundamentalmente administrando N-acetilcisteína, que aumenta la actividad del glutación reducido, que a su vez es un cosustrato de la glutación peroxidasa. Los trabajos experimentales con N-acetilcisteína resultaron satisfactorios y existe una experiencia clínica (aún muy limitada) en la que se administró la droga en la circulación extracorpórea de pacientes sometidos a revascularización coronaria con resultados favorables.<sup>90, 91</sup>

**Vitaminas A y E.** Dentro de los antioxidantes naturales, el alfa-tocoferol y el beta-caroteno desempeñan un papel importante inhibiendo los productos finales de la lipoperoxidación y el  $O_2^-$ . Existen experiencias en las que el pretratamiento con estas vitaminas indujo mayor protección miocárdica; también se emplearon con éxito reduciendo el daño miocárdico por intoxicación con adriamicina.<sup>92, 93</sup> Las vitaminas A y E fueron aplicadas en el preoperatorio de

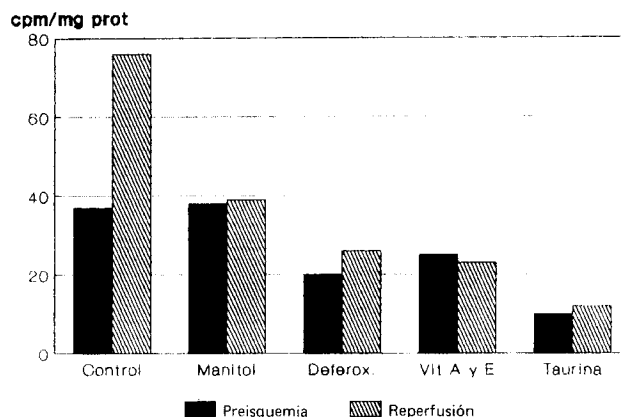
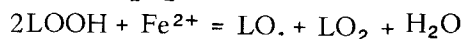
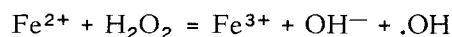
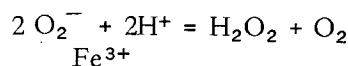


Fig. 1. Valores de quimioluminiscencia en los 5 grupos (control, manitol, deferoxamina, vitaminas A y E, taurina).

pacientes coronarios en una experiencia que realizamos comparándolos con un grupo control. Observamos una reducción significativa del estrés oxidativo en el grupo tratado<sup>94</sup> (véase fig. 1).

**Manitol.** Su empleo produjo mejoría de la función miocárdica luego de la isquemia.<sup>95-97</sup> Uno de sus mecanismos de acción es sin duda la actividad osmótica. Sin embargo, comparando la efectividad de soluciones cardioplégicas conteniendo manitol y soluciones glucosadas con igual hiperosmolaridad en corazones de conejo, el grupo que recibió manitol demostró mejor tolerancia a la isquemia en base a parámetros funcionales e histológicos.<sup>98</sup> En nuestra experiencia, el manitol redujo las arritmias de reperfusion en el posoperatorio inmediato de cirugía cardíaca, disminuyó el estrés oxidativo y el grado de lesión mitocondrial (fig. 1 y tabla 3).<sup>99</sup>

**Deferoxamina.** Es largamente conocida la afinidad que tiene este fármaco por el hierro. Su empleo demostró eficacia en determinadas patologías por sobrecarga de hierro como es la reversión de la insuficiencia cardíaca congestiva en la talasemia.<sup>100</sup> El hierro es un catalizador de diferentes reacciones de formación de RL y peróxidos:



En la primera ecuación se forma el peróxido de hidrógeno, en la segunda el radical hidroxilo y en la tercera un peroxirradical.<sup>4, 5, 101, 102</sup>

En los últimos años han surgido trabajos evi-

Tabla 3  
Grado de lesión mitocondrial

		Grado de lesión mitocondrial (%)			
		0	3	4	
Control <sup>110</sup>	A	60 ± 9	6 ± 2	5 ± 2	p < 0,01
	B	36 ± 7	16 ± 5	15 ± 2	
Manitol <sup>99</sup>	A	69 ± 12	5 ± 3	5 ± 2	
	B	60 ± 4	6 ± 1	7 ± 1	
Deferoxamina <sup>109</sup>	A	59,7 ± 9,2	3,2 ± 1	4 ± 0,7	
	B	53 ± 9	5,6 ± 2,3	7,3 ± 2	
Taurina <sup>112</sup>	A	75 ± 6		8 ± 2	**
	B	76 ± 6		8 ± 3	

A: Preisquemia. B: Reperusión. \*: Incluye grupos 0 y 1 de lesión mitocondrial. \*\*: Incluye grupos 3 y 4 de lesión mitocondrial. 0: Mitocondria de aspecto normal. 3: Mitocondria con edema masivo y alteración de las crestas. 4: Igual a 3 + rotura de la membrana mitocondrial.

denciando la acción protectora de la deferoxamina en el mecanismo del corazón "atontado" y lesiones de reperusión.<sup>103-106</sup> Algunas experiencias se realizaron en pacientes sometidos a cirugía cardíaca con resultados igualmente positivos.<sup>107,108</sup> Nosotros hemos observado menor actividad de lipoperoxidación y mayor protección a nivel histológico adicionando deferoxamina (1.000 mg en la solución cardiopléjica).<sup>109</sup> En nuestra experiencia, sin embargo, este fármaco aportó una protección inferior a la lograda con el manitol (fig. 1 y tabla 3).

En la práctica clínica, para medir el estrés oxidativo utilizamos la quimioluminiscencia y en época reciente el dosaje en plasma de las defensas antioxidantes en pacientes con distintas patologías relacionadas con el envejecimiento.

La quimioluminiscencia registra la energía liberada en forma de fotones por los productos finales de la lipoperoxidación, en especial el oxígeno singulete y el carbonilo excitado. El fenómeno es magnificado con hidroperóxido de tertbutilo y la fotoemisión es registrada en un contador de centelleo. La técnica fue aplicada en todos los casos sobre biopsias miocárdicas obtenidas de pacientes sometidos a cirugía de anastomosis coronaria, y las muestras se tomaron antes de la isquemia y a los 10 minutos de la reperusión.

Para relacionar el estrés oxidativo con el daño miocárdico se obtuvieron muestras para microscopía electrónica a los efectos de evaluar el daño

estructural, fundamentalmente a nivel de las mitocondrias. Observamos que en cirugía cardíaca luego de un período variable de isquemia se produce una importante liberación de RL en la reperusión, que se asocia con aumento del daño estructural.<sup>110</sup> Esta constituyó la primera demostración de estrés oxidativo en humanos en una intervención cardíaca. Con posterioridad empleamos en experiencias separadas manitol, deferoxamina y taurina como agentes antioxidantes. Se comprobó en todos los casos reducción del estrés oxidativo (evidenciado por la caída de la curva de quimioluminiscencia) en las muestras de pacientes que recibieron los agentes antioxidantes. Para tener una expresión cuantitativa de la lesión histológica, se clasificó el daño mitocondrial en una escala de 0 a 4 (0 = mitocondrial normal y 4 = máximo grado de lesión). Para esta clasificación, así como para la técnica de conteo mitocondrial, se siguió la metodología de Kloner y colaboradores.<sup>111</sup> Se obtuvieron varias microfotografías electrónicas por muestra, con un promedio de 300 mitocondrias por placa fotográfica. En la tabla 3 y la figura 1 se muestran los resultados con las distintas experiencias. Es de señalar que en el caso del manitol observamos disminución de las arritmias de reperusión.

Sobre la extensa literatura existente con el uso de agentes antioxidantes, tanto a nivel experimental como clínico, queda claramente evidenciado el beneficio producido por aquéllos en

el mecanismo de isquemia/reperfusión. Sin embargo, la acción protectora de los antioxidantes se limitaría a neutralizar los RL que se forman en el espacio extracelular, ya que ninguno de ellos puede atravesar el sarcolema. El  $O_2^-$  y el  $H_2O_2$ , que poseen una vida media superior al OH, atraviesan con suma facilidad la membrana; por lo tanto la SOD y la catalasa reducirían el ingreso de estas moléculas en la célula. Los antioxidantes que actúan sobre el OH se limitarían a neutralizar el daño que éste puede producir en el sarcolema. Como se sabe, debido a su vida media muy breve el OH carece de desplazamiento.

### CONCLUSIONES

De acuerdo con las investigaciones que ofrece la literatura, sobre todo a partir de 1980, varias hipótesis sobre la implicancia de los RL en el mecanismo de isquemia/reperfusión se han constituido en hechos probados, mientras que otros aspectos aún deben ser esclarecidos. Entre los hechos probados se puede establecer que:

a) Los RL son citotóxicos, en particular el OH.

b) Estas especies moleculares se forman en el mecanismo de isquemia/reperfusión (además de otras situaciones) y por lo tanto son responsables del miocardio "atontado" que se observa en diversas condiciones clínicas. Asimismo, participarían en la extensión del área de infarto por intermedio de los leucocitos.

c) Los agentes antioxidantes antagonizan en medida variable los RL y por ende sus efectos.

Aún quedan por determinar varios aspectos no resueltos, fundamentalmente:

a) Establecer cuál es el lugar más importante de la célula que genera RL y mediante qué mecanismos lo hace.

b) Cuáles son las células más afectadas: del endotelio, del intersticio, el miocito, o todas ellas.

c)Cuál es el agente antioxidante o la combinación de ellos más efectiva para su aplicación clínica.

d) En modelos experimentales los RL inducen las arritmias de reperfusión y el vasoespasmo. No está aún fehacientemente esclarecida esta acción en humanos.

El empleo de agentes antioxidantes constituye un desafío interesante para ser aplicado en las diversas situaciones cardiológicas en que se producen las lesiones de reperfusión.

### SUMMARY

Aside from its etiology (coronary thrombosis, persisting spasm, embolism, disruption of an atherosclerotic plaque, prolonged surgical ischemia, complication of an angioplasty, etc.), the resulting ischemia/reperfusion phenomena induce in the myocardium different disturbances, for instance the production of oxygen free radicals. A sufficient body of evidence involves, at least in a major part, the oxygen free radicals as being causal factors of the reperfusion myocardial damage. In this review the biochemistry and the methodology of study of oxygen free radicals, as well as the ischemia/reperfusion physiopathogeny, postreperfusion arrhythmias and the experimental and clinical results obtained with antioxidants agents (superoxide dismutase, glutathion peroxidase, vitamins A and E, mannitol, deferoxamine and taurine) are detailed.

### BIBLIOGRAFIA

- Hearse DJ: Reperfusion of the ischemic myocardium. *J Mol Cell Cardio* 1977; 9: 605-611.
- Freeman BA, Crapo JD: Free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 1982; 47: 42-55.
- Feher J, Csomos G, Vereckei A: Free radical reactions in medicine. Springer-Verlag, Berlin, 1987, p 3.
- Minotti G, Aust SD: The requirement for iron (III) in the initiation of lipid peroxidation by iron (II) and hydrogen peroxide. *J Biol Chem* 1987; 262: 1098-1110.
- Gutteridge JMC: Iron and oxygen: a biologically damaging mixture. *Acta Paediatr Scand* 1989; (Suppl 361): 78-85.
- Halliwell B, Gutteridge JMC: The importance of free radicals in catalytic metal ions in human disease. *Mol Aspects Med* 1985; 8: 89-193.
- Katz AM: Physiology of the heart. Raven Press, New York, 1986, pp 50-64.
- Opie LH: Cardiac metabolism-emergence, decline, and resurgence. Part. II. *Cardiovasc Res* 1992; 26: 817-830.
- Boveris A, Chance B: The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effects of hyperbaric oxygen. *Biochem J* 1973; 134: 101-108.
- Chambers DE, Parks DA, Patterson G et al: Xanthine-oxidase as a source of free radicals in myocardial ischemia. *J Mol Cell Cardiol* 1985; 17: 145-152.
- McCord J, Roy RS, Schaffer SW: Free radicals and myocardial ischemia: The role of xanthine-oxidase. *Adv Myocardiol* 1985; 5: 183-189.
- Stewart JR, Crute SL, Loughlin V et al: Prevention of free radicals-induced myocardial reperfusion injury with allopurinol. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1985; 90: 68-72.
- Johnson JL, Rajagopalan KV, Cohen HJ: Molecular basis of the biological function of molybdenum; effect of tungsten on xanthine-oxidase and sulfite oxidase in the rat. *J Biol Chem* 1974; 249: 859-866.
- McCord JM: Free radicals and myocardial ischemia: overview and outlook. *J Free Radic Biol Med* 1988; 4: 9-14.
- Babior BM: Oxidants from phagocytes: agents of defense and destruction. *Blood* 1984; 64: 959-966.
- Engler RL, Dahlgren MD, Morris DD et al: Role of leukocytes in response to acute myocardial ischemia and reflow in dogs. *Am J Physiol* 1986; 251: H314-H322.
- Weiss SJ, LoBuglio AF: Phagocyte-generated oxygen metabolites and cellular injury. *Lab Invest* 1982; 47: 5-18.
- Ko W, Hawes AS, Lazenby WD: Myocardial reperfusion injury. Platelet-activating factor stimulates polymorphonuclear leukocyte hydrogen peroxide production during myocardial reperfusion. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1991; 102: 297-308.

19. Montruccio G, Ailoatti G, Zetta C et al: Release of platelet activating factor from ischemic reperfused heart. *Am J Physiol* 1989; 256: H1236-H1246.
20. Rossen RD, Swain JL, Michael LH et al: Selective accumulation of the first component of complement and leukocytes in ischemic canine heart muscles. *Cir Res* 1985; 97: 119-130.
21. de Lorgeril M, Roussear G, Basmadjian A, Latour JG: Neutrophil accumulation in necrotic and viable reperfused ischemic myocardium. *Fed Proc* 1987; 46: 1043-1049.
22. Chatelain P, Latour JG, Tran D et al: Neutrophil accumulation in experimental myocardial infarcts: relation with extent of injury and effect of reperfusion. *Circulation* 1987; 75: 1083-1090.
23. Romson JL, Hook BB, Kunkel SL et al: Reduction of the extent of ischemic reperfusion injury by neutrophil depletion in the dog. *Circulation* 1983; 67: 1016-1023.
24. Simpson PJ, Todd TF III, Fantone JC et al: Reduction of experimental canine myocardial reperfusion injury by a monoclonal antibody that inhibits leukocyte adhesion. *J Clin Invest* 1988; 81: 624-629.
25. Goldhaber JL, Weiss JN: Oxygen free radicals and cardiac reperfusion abnormalities. *Hypertension* 1992; 20: 118-127.
26. Hale SL, Lange R, Alker KJ, Kloner RA: Correlates of reperfusion ventricular fibrillation in dogs. *Am J Cardiol* 1984; 53: 1397-1400.
27. Manning AS: Reperfusion-induced arrhythmias: Do free radicals play a critical role. *J Free Radic Biol Med* 1988; 4: 305-316.
28. Manning A: Reperfusion induced arrhythmias: The major determining factor. *J Moll Cell Cardiol* 1986; 18 (Suppl 4): 49.
29. Matsura H, Shattock MJ: Membrane potential fluctuations and transient inward currents induced by reactive oxygen intermediates in isolated rabbit ventricular cells. *Cir Res* 1991; 68: 319-329.
30. Burton KP, Morris AC, Massey KD et al: Cellular ionic calcium increases in cultured neonatal rat ventricular myocytes exposed to a free radical generating system. *J Moll Cell Cardiol* 1988; 20: 58.
31. Bernier M, Hearse DJ, Manning AS: Reperfusion-induced arrhythmias and oxygen derived free radicals. Studies with "anti free radical" intervention and a free radical generating system in the isolated perfused rat heart. *Cir Res* 1986; 58: 331-340.
32. Hearse DJ, Tosaki A: Free radicals and reperfusion induced arrhythmias: protection by spin trap agent PBN in the rat heart. *Cir Res* 1987; 60: 375-383.
33. Bernier M, Hearse DJ: Reperfusion induced arrhythmias: mechanisms of protection by glucose and mannitol. *Am J Physiol* 1988; 254: H862-H870.
34. Baron E, Peterson D, Elspeger J et al: Reduction of ventricular fibrillation during myocardial reperfusion in the dog by pretreatment with allopurinol. *Fed Proc* 1985; 44: 1275-1283.
35. Hatori N, Miyazaki A, Drury JK et al: Beneficial effects of coronary venous retroperfusion of SOD and catalase on reperfusion arrhythmias, myocardial function and infarct size in dogs. *Circulation* 1986; 74 (Suppl II): II-346-355.
36. Gryglewsky RJ, Palmer RMJ, Moncada S: Superoxide anion is involved in the breakdown of the endothelium-derived vascular relaxing factor. *Nature* 1986; 320: 454-456.
37. Rubanyi GM, Vanhoutte PM: Superoxide anions and hyperoxia inactivate endothelium-derived relaxing factor. *Am J Physiol* 1986; 250: H822-H827.
38. Gryglewsky RJ, Botting RM, Vane JR: Mediators produced by the endothelial cell. *Hypertension* 1988; 12: 530-548.
39. Salmon JA, Smith DR, Flower RJ et al: Further studies on the enzymatic conversion of prostaglandin endoperoxide into prostacyclin by porcine aortic microsomes. *Biochem Biophys Acta* 1978; 523: 250-252.
40. Handin RI, Karabin R, Boxer GJ: Enhancement of platelet function by superoxide anion. *J Clin Invest* 1977; 59: 959-965.
41. Salvemini D, Nucci G, Sneddon JM, Vane JR: Superoxide anions enhance platelet adhesion and aggregation. *Br J Pharmacol* 1989; 97: 1145-1150.
42. Laurindo FRM, Protasio L, Uint L et al: Evidence for superoxide radical-dependent coronary vasospasm after angioplasty in intact dogs. *Circulation* 1991; 83: 1705-1715.
43. Sies H: Oxidative stress: from basic research to clinical application. *Am J Medicine* 1991; 91 (Suppl 3C): 31-37.
44. Kramer JH, Arroyo CM, Dickens BJ, Weglicky WB: Spin-trapping evidence that graded myocardial ischemia alters postischemic superoxide production. *J Free Radic Biol Med* 1987; 3: 153-159.
45. Arroyo CM, Kramer JH, Lieboff RH et al: Spin trapping of oxygen and carbon-centered free radicals in ischemic canine myocardium. *J Free Radic Biol Med* 1987; 3: 313-316.
46. Chen G, Griffin M, Poyer JL et al: HPLC procedure for the pharmacokinetic study of the spin trapping agent alpha-phenyl-n-tert-butyl nitron. *J Free Rad Biol Med* 1990; 8: 93-98.
47. Rao PS, Weinstein GS, Rujikarn N et al: An HPLC method for in vivo quantitation of oxygen free radicals using spin and chemical traps in biological systems. *Chromatographia* 1990; 30: 19-23.
48. Gutteridge JM, Tickner TR: The characterization of thiobarbituric acid reactivity in human plasma and urine. *Anal Biochem* 1978; 91: 250-257.
49. Bird RP, Hung SSO, Hadley M et al: Determination of malonaldehyde in tissues by high pressure liquid chromatography. *Anal Biochem* 1983; 128: 240-244.
50. Csallany AS, Guan MD, Manwaring JD et al: Free malonaldehyde determination in tissues by high liquid performance chromatography. *Anal Biochem* 1984; 142: 119-120.
51. Dhankoti SN, Draper HH: Response of urinary malonaldehyde factors that stimulate lipid peroxidation in vivo. *Lipids* 1987; 22: 643-646.
52. Draper HH, Polensek L, Hadley M, McGuirr LG: Urinary malondialdehyde as an indicator of lipid peroxidation in the diet and in the tissues. *Lipids* 1984; 19: 836-843.
53. Esterbauer H, Jurgens G, Quehenberger O et al: Autooxidation of human low density lipoprotein: loss of polyunsaturated fatty acids and vitamin E and generation of aldehydes. *J Lipid Res* 1987; 28: 495-509.
54. Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE et al: Beyond cholesterol. Modification of low density lipoproteins that increase its atherogenicity. *N Engl J Med* 1989; 320: 915-924.
55. Palinski W, Rosenfeld ME, Yia Hertzuala S et al: Low density lipoprotein undergoes oxidative modification in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 1372-1376.
56. Dormandy TL, Wickens DG: The experimental and clinical pathology of diene conjugation. *Chem Phys Lipids* 1987; 45: 353-364.
57. Thompson S, Smith MT: Measurement of diene conjugated form of linoleic acid in plasma by high liquid chromatography a questionable non invasive assay of free radical activity. *Chem Biol Interact* 1985; 55: 357-366.
58. Romaschin AD, Rebeyka I, Wilson GJ, Mickle AG: Conjugated dienes in ischemic and reperfused myocardium: an in vivo chemical signature of oxygen free radical mediated injury. *J Mol Cell Cardiol* 1987; 19: 289-302.
59. Varma SD, Devamanoharan PS: Excretion of hydrogen peroxide in human urine. *Free Radic Res Comms* 1990; 8: 73-78.
60. Nahum A, Wood LDH, Snajder JI: Measurement of hydrogen peroxide in plasma and blood. *J Free Radic Biol Med* 1989; 6: 479-484.
61. England MD, Cavarocchi NC, O'Brien JF et al: Influence of antioxidants (mannitol and allopurinol) on oxygen free radical generation during and after cardiopulmonary bypass. *Circulation* 1986; 74 (Suppl III): 134-138.



62. Bhul R, Horoyd KJ, Mastrangeli A et al: Systemic glutathione deficiency in symptom free HIV-seropositive individuals. *Lancet* 1989; 2: 1294-1298.
63. Belch JJ, Chopra M, Hutchinson S et al: Free radical pathology in chronic arterial disease. *J Free Radic Biol Med* 1989; 6: 375-378.
64. Lang CA, Naryshkin S, Schneider D et al: A blood glutathione deficiency in aging human subjects. *Gerontologist* 1989; 29: 187A.
65. Marshall PJ, Warso MA, Lands WEM: Selective microdetermination of lipid hydroperoxides. *Anal Biochem* 1985; 145: 192-199.
66. Warso MA, Lands WE: Presence of lipid hydroperoxides in human plasma. *J Clin Invest* 1985; 75: 667-671.
67. Yamamoto Y, Brodsky M, Baker JC et al: Detection and characterization of hydroperoxides at picomole levels by high pressure liquid chromatography. *Anal Biochem* 1987; 160: 7-13.
68. Frei B, Stocker R, Ames BF: Antioxidant defenses and lipid peroxidation in human blood plasma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 9748-9752.
69. Turrens JF, Giulivi C, Pinus CR, Lavagno C, Boveris A: Spontaneous lung chemiluminescence upon paraquat administration. *J Free Radic Biol Med* 1988; 5: 319-323.
70. Cadenas E, Boveris A, Chance B: Low-level chemiluminescence of hydroperoxide supplemented cytochrome c. *Biochem J* 1980; 187: 131-140.
71. Boveris A, Fraga CG, Varsavski AI, Koch OR: Increased chemiluminescence and superoxide production in the liver of chronically ethanol treated rats. *Arch Biochem Biophys* 1983; 227: 534-540.
72. Boveris A, Llesuy S, Fraga CG: Increased liver chemiluminescence in tumor-bearing mice. *J Free Radic Biol Med* 1985; 1: 131-139.
73. Abdalla EK, Caty MG, Guice KS et al: Arterial levels of oxidized glutathione (CSSG) reflect oxidant stress in vivo. *J Surg Res* 1990; 48: 291-296.
74. McCay PB, Poyer JL, Pfeifer PM et al: A function for alpha-tocopherol: stabilization of the microsomal membrane from radical attack during TPNH-dependent oxidations. *Lipids* 1971; 6: 297-306.
75. Shan X, Aw TY, Jones DP: Glutathione dependent protection against oxidative injury. *Pharmac Ther* 1990; 47: 61-71.
76. Nemeth I, Boda D: The ratio of oxidized/reduced glutathione as an index of oxidative stress in various experimental models of shock syndrome. *Biomed Biochem Acta* 1989; 48: 53-57.
77. Pryor WA, Godber SS: Noninvasive measures of oxidative stress status in humans. *J Free Radic Biol Med* 1991; 10: 177-184.
78. Fridovich W: Superoxide-dismutases. *Ann Rev Biochem* 1975; 44: 147-151.
79. Stewart JR, Blackwell WH, Crute SL et al: Inhibition of surgically induced ischemia/reperfusion injury by oxygen free radical scavengers. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1983; 86: 262-271.
80. Przyklenk K, Kloner RA: Superoxide dismutase plus catalase improve contractile function in the canine model of the "stunned myocardium". *Cir Res* 1986; 58: 148-155.
81. Otani H, Engelman RM, Rousou JA et al: Cardiac performance during reperfusion improved by pretreatment with oxygen free radical scavengers. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1986; 91: 290-301.
82. Jurmann MJ, Schaeffers H, Dammenhayn L et al: Oxygen-derived free radical scavengers for amelioration of reperfusion damage in heart transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1988; 95: 368-379.
83. Uraizee A, Reimer KA, Murry CE, Jennings RB, Reimer KA: Failure of superoxide dismutase to limit size of myocardial infarction after 40 minutes of ischemia and 4 days of reperfusion in dogs. *Circulation* 1987; 75: 1237-1248.
84. Gallagher KP, Buda AJ, Pace D, Gerren RA, Shlafer M: Failure of superoxide dismutase and catalase to alter size of infarction in conscious dogs after 3 hours of occlusion followed by reperfusion. *Circulation* 1986; 73: 1065-1076.
85. Patel B, Jeroudi GP, O'Neill R, Roberts R, Bolli R: Human superoxide dismutase fails to limit infarct size after 2 hour ischemia and reperfusion. *Circulation* 1988; 78 (Suppl II): II373 (Abstract).
86. Kloner RA, Przyklenk K, Whittaker P: Deleterious effects of oxygen radicals in ischemia/reperfusion. Resolved and unresolved issues. *Circulation* 1989; 80: 1116-1127.
87. Myers CL, Weiss SJ, Kirsh MM, Shepard BM, Shlafer M: Effects of supplementing hypothermic crystalloid cardioplegic solution with catalase, superoxide dismutase, allopurinol or deferoxamine on functional recovery of globally ischemic and reperfused isolated hearts. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1986; 91: 281-290.
88. Menasche P, Grousset C, Gauduel V, Piwnica A: A comparative study of free radical scavengers in cardioplegic solutions. Improved protection with peroxidase. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1986; 92: 264-271.
89. Menasche P, Grousset C, Gauduel Y, Mousas C, Piwnica A: Enhancement of cardioplegic protection with the free radical scavenger peroxidase. *Circulation* 1986; 74 (Suppl III): 138-146.
90. Ferrari R, Ceconi C, Curello S et al: Oxygen free radicals and myocardial damage: protective role of thiol containing agents. *Am J Medicine* 1991; 91 (Suppl 3C): 95-105.
91. Sies H: Oxidative stress: from basic research to clinical application. *Am J Medicine* 1991; 91 (Suppl 3C): 31-37.
92. Ferrari R, Ceconi C, Curello S: The role of oxygen in myocardial ischemic and reperfusion damage: effect of alpha-tocopherol. *Acta Vitaminol Enzymol* 1985; 7: 61-70.
93. Milei J, Boveris A, Llesuy S et al: Amelioration of adriamycin-induced cardiotoxicity in rabbits by prenylamine and vitamins A and E. *Am Heart J* 1986; 111: 95-102.
94. Ferreira R, Milei J, Llesuy S et al: Antioxidant action of vitamins A and E in patients submitted to coronary artery bypass surgery. *Vasc Surg* 1991; 25: 191-195.
95. Bernier M, Hearse DJ, Manning AS: Reperfusion induced arrhythmias and oxygen derived free radicals. Studies with anti free radical interventions and a free radical generating system in the isolated perfused rat heart. *Cir Res* 1986; 58: 331-340.
96. Ouriel K, Ginsburg ME, Patti CS et al: Preservation of myocardial function with mannitol reperfusate. *Circulation* 1985; 72 (Suppl 2): 254-258.
97. Bernier M, Hearse DJ: Reperfusion-induced arrhythmias: mechanism of protection by glucose and mannitol. *Am J Physiol* 1988; 254: H862-H870.
98. Magovern GF, Bolling SF, Casale AS et al: The mechanism of mannitol in reducing ischemic injury: hyperosmolarity or hydroxyl scavenger? *Circulation* 1984; 70 (Suppl 1): 91-95.
99. Ferreira R, Burgos M, Llesuy S, Milei J et al: Reduction of reperfusion injury with mannitol cardioplegia. *Ann Thorac Surg* 1989; 48: 77-84.
100. Wolfe L, Olivieri N, Sallan D: Prevention of cardiac disease by subcutaneous deferoxamine in patients with thalassemia major. *N Eng J Med* 1985; 312: 1600-1603.
101. Biemond P, van Eijk HG, Swaak AJG, Koster JF: Iron mobilization from ferritin by superoxide-derived from stimulated polymorphonuclear leukocytes. *J Clin Invest* 1984; 73: 1576-1579.
102. McCord JM: Is iron sufficiency a risk factor in ischemic heart disease? *Circulation* 1991; 83: 1112-1114.
103. Ambrosio G, Zweier JL, Jacobus WE et al: Improvement of myocardial function and metabolism induced by administration of deferoxamine at the time of reflow: the role of iron in the pathogenesis of reperfusion injury. *Circulation* 1987; 76: 906-915.
104. Williams RE, Zweier JL, Flaherty JT: Treatment with deferoxamine during ischemia improves functional and metabolic recovery and reduces reperfusion-induced oxygen radical generation in rabbit hearts. *Circulation* 1991; 83:

- 1006-1014.
105. Reddy BR, Kloner RA, Przyklenk K: Early treatment with deferoxamine limits myocardial ischemic reperfusion injury. *J Free Radic Biol Med* 1989; 7: 45-52.
106. Lesnefsky EJ, Repine JE, Horwitz LD: Deferoxamine pretreatment reduces canine infarct size and oxidative injury. *J Pharmacol Exp Ther* 1990; 253: 1103-1109.
107. Menasche P, Pasquier C, Bellucci S et al: Deferoxamine reduces neutrophil mediated free radical production during cardiopulmonary bypass in man. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1988; 96: 582-589.
108. Luluaga IT: Prevención de la injuria de reperfusión con deferoxamina en la cirugía de bypass aortocoronario. *Rev Arg Cardiol* 1990; 58: 117-124.
109. Ferreira R, Burgos M, Milei J et al: Effect of supplementing cardioplegic solution with deferoxamine on reperfused human myocardium. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1990; 100: 708-714.
110. Ferreira R, Llesuy S, Milei J et al: Assessment of myocardial oxidative stress in patients after myocardial revascularization. *Am Heart J* 1988; 115: 307-311.
111. Kloner RA, Fishbein MC, Braunwald E, Maroko PR: Effect of propranolol on mitochondrial morphology during acute myocardial ischemia. *Am J Cardiol* 1978; 41: 881-886.
112. Milei J, Ferreira R, Llesuy S et al: Reduction of reperfusion injury with preoperative rapid intravenous infusion of taurine during myocardial revascularization. *Am Heart J* 1992; 123: 339-345.

## Hacia un nuevo modelo de reestenosis coronaria sintomática

ALFREDO RODRIGUEZ (h)

Departamento de Cardiología Intervencionista, Sanatorio Anchorena, Buenos Aires

Trabajo recibido para su publicación: 12/92. Aceptado: 3/93

Dirección para separatas: Dr. Alfredo Rodríguez (h), Ayacucho 1547, 10º piso, Capital Federal, Argentina

Desde los trabajos experimentales y clínicos realizados por Block<sup>1,2</sup> hasta el clásico estudio anatomopatológico efectuado por Faxon en 1983,<sup>3</sup> la hiperplasia fibrointimal fue la causa considerada como más frecuente relacionada con la reestenosis coronaria posangioplastia.<sup>4,5</sup> Si bien se hallaron factores trombóticos asociados,<sup>6</sup> la hiperplasia fibrointimal continuó llamando la atención de investigadores básicos y clínicos. Como consecuencia se llevaron a cabo innumerables trabajos para explicar los mecanismos biológicos y humorales involucrados en la fisiopatogenia de la misma.<sup>7,8</sup>

### BIOLOGIA DE LA HIPERPLASIA FIBROINTIMAL

La lesión endotelial que se produce invariablemente posangioplastia desarrolla una serie de mecanismos a nivel de las plaquetas, las células endoteliales y el músculo liso que se traduce en una proliferación y migración patológica celular de este último que desarrolla en una hiperplasia fibrointimal con posterior reestenosis. La agregación plaquetaria luego del daño endotelial libera factores de crecimiento celular, entre otros el PDGF. Estos factores de crecimiento estimulan a las células del músculo liso para su proliferación y posterior migración hacia la íntima. Las células del músculo liso pierden la capacidad de contraerse y aumentan la propie-

dad de dividirse.<sup>9-11</sup>

En una primera etapa, el engrosamiento intimal es producto del aumento del número de células; posteriormente éstas dejan de dividirse y aumentan su volumen celular por incremento del tejido conectivo y de la matriz extracelular (fig. 1).<sup>12</sup> La injuria directa a las células del músculo liso, tanto mecánica como inflamatoria, parece ser esencial para el proceso de hiperplasia fibrointimal, y en esto la profundidad de la lesión, involucrando la túnica media, más que la extensión, estaría relacionada con el proceso de reestenosis.<sup>8,12-14</sup>

La hiperplasia fibrointimal como fenómeno "cicatrizal" posterior a la lesión no fue capaz de explicar por qué sólo el 30-40% de las lesiones sometidas a angioplastia desarrolla reestenosis coronaria sintomática. Existirían otros factores asociados, como la recuperación elástica del vaso, trombosis local, etc., que acompañarían al proceso de hiperplasia fibrointimal.<sup>8,15</sup> Sin embargo, durante todos estos años se trató la reestenosis coronaria basada principalmente en dos premisas: 1) la hiperplasia fibrointimal, aun desencadenada en el momento de la angioplastia, es un fenómeno lento, gradual y clínicamente con repercusión hemodinámica dentro de los seis primeros meses posteriores al procedimiento y 2) los estudios angiográficos mostraron que el porcentaje de reestenosis aumentaba del