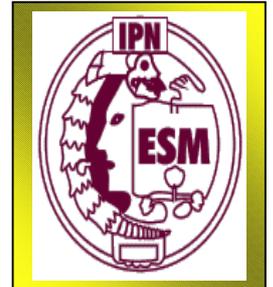




INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA POSGRADO



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
HOSPITAL GENERAL
"GAUDENCIO GONZALEZ GARZA"
CENTRO MEDICO NACIONAL "LA RAZA"

**"CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL DEL PLASMA HUMANO
DURANTE LA REPERFUSION EN EL INFARTO AGUDO DEL
MIOCARDIO. Efecto de una mezcla de agentes antioxidantes".**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS EN INVESTIGACIÓN CLINICA.

P R E S E N T A :

DANIEL HECTOR MONTES CORTES.



MÉXICO, D. F.

NOVIEMBRE 2004.



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
COORDINACIÓN GENERAL DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

*ACTA DE REGISTRO DE TEMA DE TESIS
 Y DESIGNACIÓN DE DIRECTOR DE TESIS*

México, D.F. a 15 de FEBRERO del 2003

El Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de La E.S.M. en su sesión ORDINARIA No. _____ celebrada el día 12 del mes de FEBRERO conoció la solicitud presentada por el(la) alumno(a):

MONTES CORTÉS DANIEL HÉCTOR
 Apellido paterno materno nombre

Con registro:

B-0	2	1	5	5	6
-----	---	---	---	---	---

Aspirante al grado de: MAESTRÍA EN CIENCIAS EN INVESTIGACIÓN CLÍNICA

1.- Se designa al aspirante el tema de tesis titulado:

“CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL DEL PLASMA HUMANO DURANTE LA REPERFUSIÓN EN EL INFARTO AGUDO MIOCARDIO. Efecto de una mezcla de agentes antioxidantes ”

De manera general el tema abarcará los siguientes aspectos:

RESUMEN (VERSIÓN EN ESPAÑOL E INGLÉS), INTRODUCCIÓN , JUSTIFICACIÓN ,
 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA, OBJETIVO GENERAL, MATERIAL Y MÉTODOS,
 RESULTADOS Y DISCUSIÓN, CONCLUSIONES, BIBLIOGRAFÍA, APÉNDICE

2.- Se designa como Director y Codirector de Tesis al C. DR. JUAN JOSÉ HICKS GÓMEZ , DR. JORGE E. HERRERA ABARCA

3.- El trabajo de investigación base para el desarrollo de la tesis será elaborado por el alumno en:
LABORATORIO DE BIOQUÍMICA DEL HOSPITAL JUÁREZ, S.S.A.

Que cuenta con los recursos e infraestructura necesarios.

4.- El interesado deberá asistir a los seminarios desarrollados en el área de adscripción del trabajo desde la fecha en que se suscribe la presente hasta la aceptación de la tesis por la Comisión Revisora correspondiente:

JEFE DE LA SECCIÓN

TUTOR EXTERNO

Y

TUTOR INTERNO


 DR. JOSÉ GPE. TRUJILLO FERRARA


 DR. JUAN JOSÉ HICKS GÓMEZ


 DR. JORGE EDUARDO HERRERA ABARCA

El Aspirante


 DANIEL HECTOR MONTES CORTÉS

El Presidente del Colegio


 DR. JOSÉ GPE. TRUJILLO FERRARA





INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
COORDINACIÓN GENERAL DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de México, D.F. siendo las 12:00 horas del día 04 del mes de Octubre del 2004 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de La E.S.M.

para examinar la tesis de grado titulada:
"CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL DEL PLASMA HUMANO DURANTE LA REPERFUSIÓN EN EL INFARTO AGUDO MIOCARDIO. Efecto de una mezcla de agentes antioxidantes "

Presentada por el (la) alumno (a):

<u>Montes</u> Apellido paterno	<u>Cortés</u> materno	<u>Héctor Daniel</u> nombre(s)						
Con registro:			<u>B-0</u>	<u>2</u>	<u>1</u>	<u>5</u>	<u>5</u>	<u>6</u>

aspirante al grado de:

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN INVESTIGACIÓN CLÍNICA

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **SU APROBACIÓN DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

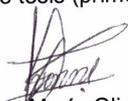
LA COMISIÓN REVISORA


Dra. Guadalupe Cleva Villanueva López
Presidente de jurado


Dr. Ignacio Valencia Hernández
Secretario del Jurado


Dr. Juan José Hicks Gómez
Director de tesis (primer vocal)


Dr. Jorge Eduardo Herrera Abarca
(segundo vocal)


M. en C. Ivonne María Olivares Corichi
Tercer vocal

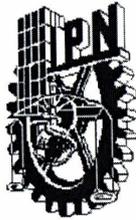

M. en C. María del Pilar Cruz Domínguez
Vocal suplente

EL PRESIDENTE DEL COLEGIO


Dr. José Gpe. Trujillo Ferrera



ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA
IPN
DIRECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
E INVESTIGACIÓN



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
COORDINACIÓN GENERAL DE POSGRADO

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de México, D.F. el día **22** del mes **octubre** del año **2004**, el (la) que suscribe **DANIEL HÉCTOR MONTES CORTÉS** alumno (a) del Programa de **MAESTRÍA EN CIENCIAS EN INVESTIGACIÓN CLÍNICA** con número de registro **B-021556** adscrito a la **ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA** manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección del **DR. JORGE EDUARDO HERRERA ABARCA** y cede los derechos al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido llamando al siguiente teléfono **5537-5889** y en el e-mail Pilydany1010@aol.com.mx. Sí el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.



DANIEL HÉCTOR MONTES CORTÉS

COMITÉ TUTORIAL:

DIRECTOR:

DR. JUAN JOSÉ HICKS GÓMEZ.

CODIRECTOR:

DR. JORGE EDUARDO HERRERA ABARCA.

MIEMBROS DEL COMITÉ

DRA. GUADALUPE CLEVA VILLANUEVA LOPEZ.

DR. IGNACIO VALENCIA HERNÁNDEZ.

M. en C. IVONNE MARÍA OLIVARES CORICHI.

M. en C. MARÍA DEL PILAR CRUZ DOMÍNGUEZ.

AGRADECIMIENTOS.

A mis padres:

Josefina Cortés Núñez. Gustavo C. N.

Gracias por el infinito cariño y sapiencia que día con día sin cansancio me has otorgado. Recuerda que te quiero madre ¡Nunca lo olvides!

Te Amo Belleza

Tus consejos están presentes en mi proceder "El camino de la vida es difícil de andar:

--- Si caminas por la izquierda se encuentra la alegría y felicidad; el exceso te ciega de la realidad sin tener la posibilidad de evolucionar.

--- Si decides caminar por el lado derecho de camino encontraras tristeza y desdicha ambas te conducirán a la penumbra, experimentarás depresión continua y tampoco evolucionaras para bien.

--- Pero si decides que tu andar es por el centro del camino, la prosperidad en desarrollo y crecimiento alcanzaras. ¡Recuerda tu decides!

Gracias Padre.

A mi esposa:

Dra. María del Pilar Cruz Domínguez.

El casarme contigo ha sido la más valiosa y acertada decisión en mi vida. El amor nunca finaliza a menos que tu lo desees. Ese es el pilar de esta relación. No solo siento amor y cariño por ti, sino una gran admiración por la templanza de mujer que te caracteriza.

Te Amo Cariño.

A mi Hijo:

Ian Dennis Montes Cruz.

Aún no naces bebé, pero veo gustoso como creces día a día dentro de nuestra reina, ambos ya deseamos tenerte en brazos para darte amor y enseñarte lo bello de la vida. Gracias Dios por la bendición y ratificación de esta relación a través de IAN.

A mis Sobrinos:

Rodrigo, Axel, Alan, Ulises, Javier, Leila y Sheila.

Gracias por haberme robado la ira y frustración en momentos difíciles, continúen con esa inocencia, travesuras y alegría angelical que los caracteriza. Gracias por hacerme la vida más plena. En especial a ti Rodrigo que espero que este logro obtenido sea muestra de la capacidad que cualquier persona tiene en sí. Y tu tienes demasiadas cualidades para ser una persona exitosa en la vida.

Siempre serás mi hijo ¡Recuérdalo!

A mis hermanos.

Susana, Alberto, Mariana y Pedro.

Por compartir conmigo los buenos y malos momentos de mi vida y por los lazos de amor que nos unen aún más que la sangre.

A los Drs.

Dr. Juan J. Hicks Gómez.

M. en C. Futura Doctora Ivonne María Olivares Corichí.

Por sus enseñanzas contempladas en apoyo y paciencia para la finalización de este proyecto, Gracias por creer en mi persona. Deseando que no sea el primero ni el último proyecto de investigación donde se trabaje en equipo.

Al Personal de Enfermería:

Victoria Rodríguez Reyes, María Olga Rojas Herrera, Jasmín Frutos Mateos y Rosa María Quezada Mora

Gracias por el apoyo incondicional en el tiempo que duro la investigación clínica ya que sin su ayuda no se hubiese culminado el presente trabajo de investigación.

A los Pacientes:

Gracias a todos los pacientes que participaron y colaboraron para el desarrollo del presente en el estudio de investigación médica. Recordar que tanto su trabajo como el del equipo experimental esta encaminado a mejorar la atención médica en la enfermedad.

	Páginas
ÍNDICE	
i. Glosario.	9
ii. Resumen.	11
iii. Abstract.	12
I. INTRODUCCIÓN.	13
I.1. Radicales libres (RL).	13
I.1.1. Anión superóxido ($O_2^{\bullet-}$).	13
I.1.2. Peróxido de hidrógeno (H_2O_2).	14
I.1.3. Radical hidroxilo (HO^{\bullet}).	14
I.2. Defensas antioxidantes.	15
I.2.1. Antioxidantes enzimáticos.	15
I.2.1.a. Superóxido dismutasas (SOD).	15
I.2.1.b. Catalasa (CAT).	16
I.2.1.c. Glutación peroxidasa (GSH-Px).	16
I.2.1.d. Paraoxonasa (PON1).	17
I.2.2. Antioxidantes no enzimáticos.	18
I.2.2.a. Vitamina E (α tocoferol).	18
I.2.2.b. Vitamina C (ácido ascórbico).	19
I.2.2.c. β-caroteno.	19
I.2.2.d. Glutación reducido (GSH).	19
I.2.2.e. Selenio.	20
I.2.2.f. Zinc.	20
I.3. Estrés oxidante.	21
I.3.1. Daño a biomoléculas.	21
I.3.1.a. Ácidos nucleicos.	21
I.3.1.b. Carbohidratos.	22
I.3.1.c. Proteínas.	22
I.3.1.d. Lípidos.	22
I.4. Radicales libres en fisiopatología.	23
I.5. Isquemia-reperfusión.	24
I.6. Evidencias de la relación entre estrés oxidante y el fenómeno isquemia reperfusión.	25
I.6.1. Evidencias de la participación de los radicales libres en el infarto agudo del miocardio.	25

I.7. Infarto agudo del miocardio (IAM).	26
II. JUSTIFICACIÓN.	27
III. HIPÓTESIS.	28
IV. OBJETIVOS.	28
V. MATERIALES Y MÉTODOS.	28
V.1. Reactivos.	28
V.2. Captación de pacientes.	28
V.3. Diagnóstico del infarto agudo del miocardio (IAM).	29
V.4. Administración de la mezcla de agentes antioxidantes.	29
V.5. Obtención del plasma.	30
V.6. Seguimiento.	30
V.7. Determinación de la capacidad antioxidante total del plasma (CATP).	30
V.8. Determinación de los compuesto reactivos al ácido tiobarbitúrico (CRAT).	31
V.9. Determinación de la actividad de paraoxonasa (PON1) en plasma.	31
V.10. Aspectos éticos.	31
V.11. Análisis estadístico.	32
VI. RESULTADOS.	33
VI.1. Aspectos clínicos basales del infarto agudo del miocardio (IAM).	33
VI.2. Aspectos bioquímicos y hemodinámicos del IAM.	33
VI.3. Capacidad antioxidante total en plasma durante el IAM.	35
VI.4. Características oxidativas basales (productos de lipoperoxidación) en plasma durante el IAM.	38
VI.5. Actividad enzimática de la paraoxonasa (PON1).	41
VI.6. Cuenta celular de leucocitos totales en plasma durante el IAM.	42
VI.7. Cuenta celular de neutrófilos en plasma durante el IAM.	43
VI.8. Principales arritmias registradas en el IAM.	44
VII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.	45
VIII. CONCLUSIONES.	50
IX. REFERENCIAS.	51
X. ANEXOS.	61

i Glosario.

ACC	American College Cardiology.
AHA	American Heart Association.
ANOVA	Análisis Multivariado.
ATP	Trifosfato de Adenosina.
B A-V	Bloqueo Aurículo-ventricular.
BCDIHH	Bloqueo Completo de Rama Derecha del Haz de His.
BCRIHH	Bloqueo Completo de Rama Izquierda del Haz de His.
BHT	Hidroxitolueno Butilado.
BS	Bradycardia Sinusal.
Ca ⁺	Calcio.
CAT	Catalasa.
CMNR	Centro Médico Nacional La Raza.
CPK	Creatin fosfocinasa.
CRAT	Compuestos Reactivos al Ácido Tiobarbitúrico.
Cu ⁺	Cobre.
CuSO ₄	Sulfato de Cobre.
CVP	Complejos Ventriculares Prematuros.
DHL	Deshidrogenasa Láctica.
DM-2	Diabetes Mellitus Tipo 2.
DNA	Ácido Desoxirribonucleico.
EKG	Electrocardiograma.
FA	Fibrilación Auricular.
FC	Frecuencia Cardíaca.
Fe ²⁺	Ion ferroso.
Fe ³⁺	Ion férrico.
FR	Frecuencia Respiratoria.
FT	Factor Tisular.
FV	Fibrilación Ventricular.
GSH	Glutación Reducido.
GSH-Px	Glutación Peroxidasas.
H ⁺	Hidrógeno.
H ₂ O ₂	Peróxido de Hidrógeno.
HCl	Ácido Clorhídrico.
HDL	Lipoproteínas de Alta Densidad.
HO [*]	Hidroxilo.
HO ⁻	Oxhidrilo.
HTA	Hipertensión Arterial Sistémica.
IAM	Infarto Agudo del Miocardio.
IMSS	Instituto Mexicano del Seguro Social.
IL	Interleucinas.
IL-1β	Interleucina 1 Beta.
IL-6	Interleucina 6.
IL-8	Interleucina 8.
K ⁺	Potasio.
LDL	Lipoproteínas de Baja Densidad.
LO ⁻	Alcoxilo.

LOO ⁻	Peroxilo.
LVP	Latido Ventricular Prematuro.
MAA	Mezcla de Agentes Antioxidantes.
MCP-1	Proteína Quimiotáctica del Monocito –1.
MDA	Malondialdehído.
Mg ⁺⁺	Magnesio.
NaCO ₃	Carbonato de Sodio.
NADP	Fosfato de Dinucleótido de nicotinamida y adenina.
NADPH	Fosfato de Dinucleótido de nicotinamida y adenina reducido.
NaOH	Hidróxido de Sodio.
NO [•]	Oxido Nítrico.
O ₂ ⁻	Oxígeno.
O ₂ ^{•-}	Anión Superóxido.
ONOOO ⁻	Peroxinitrito.
PA	Presión Arterial.
PAM	Presión Arterial Media.
PGI ₂	Prostaglandina.
PLP	Fosfato Piridoxal.
PMP	Fosfato de Piridoxamina.
PNS	Valor de p No Significativo.
PON1	Paraoxonasa – 1.
PVC	Presión Venosa Central.
QRS	Complejo QRS Electrocardiográfico.
ERN	Especies Reactivas de Nitrógeno.
RNA	Ácido Ribonucleico.
ERO	Especies Reactivas de Oxígeno.
SOD	Superóxido Dismutasa.
ST	Segmento ST Electrocardiográfico.
TBA	Ácido Tiobarbitúrico.
TBARS	Sustancias Reactivas al Ácido Tiobarbitúrico.
TBL	Trombólisis.
TGO	Transaminasa Glutámico Oxalacética.
TV	Taquicardia Ventricular
WIC	Recuento de Leucocitos por Impedancia.
WOC	Recuento Óptico de Leucocitos.

ii Resumen.

CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL DEL PLASMA HUMANO DURANTE LA REPERFUSION EN EL INFARTO AGUDO DEL MIOCARDIO. Efecto de una mezcla de agentes antioxidantes. Montes-Cortés D, Olivares-Corichi I, Cruz-Domínguez M, Valencia-Hernández I, Dra. Guadalupe Cleva Villanueva López, Medina-Santillán R, Hicks-Gómez J.

El objetivo de este estudio fue investigar el daño al miocardio que las especies reactivas de oxígeno (ERO) producen posterior a la reperfusión en pacientes con infarto agudo del miocardio (IAM) y el efecto de una mezcla de agentes antioxidantes (MAA) como medida coadyuvante al tratamiento estándar. Se cuantificó la capacidad antioxidante total (CATP), el material reactivo al ácido tiobarbitúrico (CRAT), la actividad enzimática de la paraoxonasa (PON-1) en plasma de individuos que recibieron la MAA [vitamina C (100 mg), vitamina E (100 mg), zinc (15 mg) y selenio (70 µg)] / placebo (solución salina 0.9%; 2ml), así como el conteo de células blancas en sangre (leucocitos / neutrófilos) y la incidencia de arritmias durante las primeras veinticuatro horas.

Se utilizó la reacción de Fenton para generar radicales hidroxilo (HO^{*}), el ácido tiobarbitúrico y dietil (p-nitrofenol) fosfato (paraoxon) en presencia de plasma humano, para cuantificar la CATP, CRAT, PON-1 respectivamente. El conteo de células blancas en sangre fue por medio del sistema Cell-Dyn 3700 el cual realizó recuento óptico de leucocitos (WOC) y recuento de leucocitos por impedancia (WIC). Se realizó registro electrocardiográfico continuo con fines de detección oportuna de arritmias.

El grupo placebo presentó una reducción significativa en la concentración de CATP desde la primera hora y descenso máximo a las cuatro horas de trombólisis (1.65 ± 0.36 --- 1.41 ± 0.72 respectivamente, $p < 0.01$). La PON-1 también mostró actividad baja en plasma desde el inicio y hasta el final del estudio (0.62 ± 0.05 --- 0.47 ± 0.04 respectivamente, $p < 0.001$). La concentración de CRAT se incrementó desde la primera hora posterior a la reperfusión con pico máximo a las cuatro horas (1.07 ± 0.31 --- 1.36 ± 0.37 respectivamente, $p < 0.001$). El conteo de leucocitos (neutrófilos) se incrementó a las veinticuatro horas con respecto a los valores basales (7225 ± 861 --- 9000 ± 837 , $p < 0.05$). La frecuencia de complicaciones eléctricas (arritmias) tales como complejos ventriculares prematuros (CVP), fibrilación auricular (FA), taquicardia ventricular (TV) y bloqueo aurículo-ventricular de primer grado fueron más frecuentes en este grupo de pacientes.

En el grupo tratado con MAA se incrementó la CATP desde la primera hora con pico máximo a las veinticuatro horas (2.81 ± 0.66 --- 3.00 ± 0.95 respectivamente, $p < 0.01$). La PON-1 también presentó incremento en la actividad desde la primera hora con pico máximo a las cuatro horas (1.08 ± 0.09 --- 1.27 ± 0.11 , respectivamente $p < 0.001$). La concentración de CRAT se redujo desde la primera hora y hasta las veinticuatro horas del estudio (0.53 ± 0.29 --- 0.28 ± 0.16 respectivamente, $p < 0.001$). El conteo de células blancas leucocitos (neutrófilos) se redujo significativamente a las veinticuatro horas en comparación con su basal (8798 ± 730 --- 5663 ± 395 , $p < 0.0001$). La bradicardia sinusal (BS) fue la arritmia más frecuente registrada en este grupo, sin embargo no se detectaron arritmias malignas como en el grupo placebo.

En conclusión, en las primeras veinticuatro horas del infarto agudo del miocardio se logró mejorar la capacidad antioxidante total y la actividad enzimática de la paraoxonasa con la administración de la MAA, posiblemente a través de reducir la peroxidación de lípidos causado por las especies reactivas de oxígeno determinado por las bajas concentraciones de compuestos reactivos al ácido tiobarbitúrico en plasma. También se encontró reducción en el conteo de células blancas sanguíneas y en la frecuencia de complicaciones eléctricas (arritmias).

ii Abstract.

PLASMA TOTAL ANTIOXIDANT CAPACITY DURING REPERFUSION IN ACUTE MYOCARDIAL INFARCTION. Effect of a mixture antioxidant agents. Montes-Cortés D, Olivares-Corichi I, Cruz-Domínguez MP, Valencia-Hernández I, Villanueva-López GC, Medina-Santillán R, Hicks-Gómez J.

The aim of this study was to investigate the myocardial damage that reactive oxygen species (ROS) take place later to reperfusion in patients with acute myocardial infarction (AMI) and the effect of a mixture antioxidant agents (MAA) as a helping measure to the standard treatment. The plasma total antioxidant capacity (PTAC), the thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) and paraoxonasa (PON-1) enzymatic activity were quantified in individuals that received MAA [vitamin C (100 mg), vitamin E (100 mg), zinc (15 mg) and selenium (70 µg)] vs placebo (solution saline 0.9%; 2ml) as well as white blood cell counts (leukocytes / neutrophils) and arrhythmias incidence.

The Fenton reaction was used to generate hydroxyl radical (HO·), thiobarbituric acid and diethyl p-nitrophenol phosphate (paraoxon) in presence human plasma to quantify the PTAC, TBARS and PON-1 respectively. The white blood cells was measured by Cell-Dyn 3700 system through optic and by impedance leukocytes recount. Lastly we takes continues electrocardiographic registration with ends of arrhythmias opportune detection.

The placebo patient group presented a significant reduction in PTAC concentration from the first hour and maximum descent after four hours of thrombolysis (1.65 ± 0.36 --- 1.41 ± 0.72 respectively, $p < 0.01$). The PON-1 activity also showed constant decrement from the first hour until the end of the study (0.62 ± 0.05 --- 0.47 ± 0.04 respectively, $p < 0.001$), while the TBARS concentration showed increment after reperfusion from the first hour until the peak at four hours (1.07 ± 0.31 --- 1.36 ± 0.37 respectively, $p < 0.001$). The leukocyte (neutrophils) count was increased at the twenty-four hours in relation to basal count (7225 ± 861 --- 9000 ± 837 , $p < 0.05$).. The electric complications frequency (arrhythmias) such as premature ventricular complexes (PVC), atrial fibrillation (FA), ventricular tachycardia (VT) and first grade atrioventricular block were more frequent in this group of patient.

The MAA group showed PTAC increment from the first hour and the peak was at twenty-four hours (2.81 ± 0.66 --- 3.00 ± 0.95 respectively, $p < 0.01$). The PON-1 also had an increment from the first hour until the peak at four hours (1.08 ± 0.09 --- 1.27 ± 0.11 respectively, $p < 0.001$). The TBARS concentration was reduced from the first hour until the twenty-four hours (0.53 ± 0.29 --- 0.28 ± 0.16 respectively, $p < 0.001$). The leukocytes (neutrophils) had significant reduction at the twenty-four hours in comparison with their basal (8798 ± 730 --- 5663 ± 395 , $p < 0.0001$). The sinoatrial bradycardia (BS) was the most frequent arrhythmia registered in this group, however malignant arrhythmias were not detected like in placebo group.

In conclusion, in the first twenty-four hours after acute myocardial infarction is possible to improve the total antioxidant capacity and enzymatic paraoxonasa activity with MAA administration, possibly through reducing lipid peroxidation caused for reactive oxygen species determined by thiobarbituric acid reactive substances plasmatic low concentrations. We also found reduction in white blood cell counts and electric complications frequency (arrhythmias).

I. INTRODUCCION

En los organismos aeróbicos el oxígeno (O_2) es esencial en el mantenimiento de la vida ya que su ausencia conduce rápidamente a la muerte. Sin embargo, altas concentraciones de O_2 son tóxicas debido a la producción excesiva de Especies Reactivas de Oxígeno (ERO), que se forman por la reducción incompleta del O_2 , entre estas ERO se encuentra el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y los radicales libres; anión superóxido ($O_2^{\bullet-}$) y el radical hidroxilo (HO^{\bullet}), entre otros.

I.1. Radicales Libres (RL).

Los orbitales atómicos son las regiones del espacio que rodean a un núcleo atómico y se consideran como las zonas de probabilidad, en las cuales pueden encontrarse los electrones de los átomos. En un átomo cada orbital puede contener como máximo dos electrones, los cuales se representan por su ubicación con tres números cuánticos iguales (n, l, m) y se diferencian en el cuarto número que es el spin (s), que corresponde el valor de rotación expresado según el sentido de la misma. Los valores de giro son de: $+ \frac{1}{2}$ o $- \frac{1}{2}$ pues dos electrones en el mismo orbital presentan giros antiparalelos, de acuerdo al principio de exclusión de Pauli (no pueden existir en un átomo dos electrones con los cuatro números cuánticos iguales. Con base a lo anterior un **radical libre** (RL) puede definirse como cualquier especie atómica o molecular que contiene uno o más electrones no apareados ^(Hicks, 2001).

La mayoría de los RL de interés para la biología o la medicina son los derivados del oxígeno; entre otros pueden mencionarse: el singulete de oxígeno ($^1O_2^*$), el radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$), y el radical hidroxilo (HO^{\bullet}). Además el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), que no es un radical libre en sí, está estrechamente relacionado porque es el principal precursor del RL hidroxilo ^(Hicks, 2001).

I.1.1. Anión superóxido ($O_2^{\bullet-}$).

Los agentes oxidantes, como el anión superóxido ($O_2^{\bullet-}$), son producidos durante el transporte de electrones a lo largo de la cadena respiratoria mitocondrial en las reacciones enzimáticas catalizadas por la xantina-oxidasa, el citocromo P_{450} y la fosfolipasa A_2 . Dicha producción de ERO esta dado por reducción univalente del oxígeno con la ayuda de enzimas tipo oxidasas para formar $O_2^{\bullet-}$. Al reaccionar el $O_2^{\bullet-}$ en solución acuosa con otra molécula de $O_2^{\bullet-}$ forma H_2O_2 o mediante la catálisis de la enzima superóxido dismutasa (SOD) ^(Wolin et al, 1985).

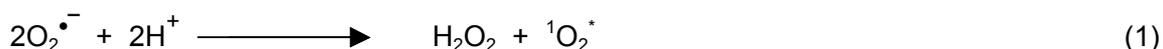
I.1.2. Peróxido de Hidrógeno (H₂O₂).

Es una especie reactiva de oxígeno (no es un RL) precursor del radical hidroxilo en presencia de metales de transición como el ión ferroso, ión cuproso, etc (reacción de Fenton), muy reactiva el cual es generada por los neutrófilos y macrófagos. Dicho hidroxilo es muy frecuente en el daño celular durante la inflamación aguda^(Lelli et al, 1998). Las células expuestas al peróxido de hidrógeno provocan una serie de eventos bioquímicos que conducen al daño, a través de una reducción en los niveles de ATP, inhibir la función de la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa, por medio del rompimiento de la cadena de DNA siguiendo a la depleción de NAD (nicotin-adenin-dinucleótido) y alteraciones en el citoesqueleto^(Lelli et al, 1998). La exposición de muchos modelos celulares a concentraciones mayores de (1nM) de H₂O₂ resulta en muerte celular con un patrón consistente de necrosis; a concentraciones menores (1nM) , las células presentan un patrón de tipo apoptosis^(Lelli et al, 1998).

I.1.3. Hidroxilo (HO•).

Es un oxidante en extremo reactivo que interacciona con las biomoléculas que se encuentran en los organismos.

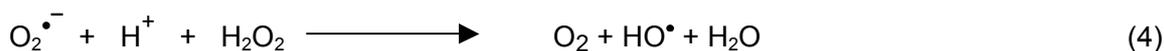
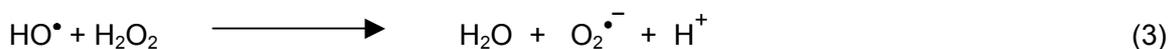
Estrictamente, el H₂O₂ no es un radical libre porque no posee electrones no apareados. La vida media del H₂O₂ depende de la presencia o ausencia de las enzimas encargadas de removerlo del medio como la catalasa o la glutatión peroxidasa. Se forma por la dismutación del O₂^{•-} (reacción 1), reacción intracelular catalizada por la enzima superóxido dismutasa, o puede formarse también en medio acuoso el O₂^{•-}; dismuta de manera espontánea generando H₂O₂ y oxígeno singulete^(Bannister y Rotilio, 1987).



El H₂O₂ es un agente que puede difundir a través de las membranas celulares al espacio extracelular, donde existen pocos mecanismos de defensa antioxidante y ahí puede participar en la formación del radical hidroxilo. A pesar de no ser en sí un radical, tiene una importancia vital, ya que en presencia de metales de transición como Cu⁺ o Fe²⁺ da lugar a la reacción **Fenton** con la producción del radical hidroxilo (HO•) (reacción 2).



Haber y Weiss en 1934 describen que el HO• en presencia de H₂O₂ forma O₂^{•-}; y que este anión superóxido ante un exceso de peróxido de hidrógeno, da lugar a la generación de una cantidad adicional de radical hidroxilo (Haber & Weiss, 1934) según las siguientes reacciones (3 y 4):



El conjunto de las reacciones descritas, constituye el ciclo de **Haber y Weiss**. La coexistencia del O₂^{•-}; y del H₂O₂, en un medio biológico que inevitablemente contiene hierro o cobre, es muy peligrosa, ya que el radical HO• formado, es un oxidante muy reactivo que interacciona con todas las biomoléculas, a velocidades sólo limitadas por su difusión (Yu, 1994).

Otra vía de formación del RL HO• es a partir del anión peroxinitrito (ONOO⁻) que se forma por la reacción entre el óxido nítrico (NO•) con el O₂^{•-} (reacción 5).



I.2. Defensas antioxidantes.

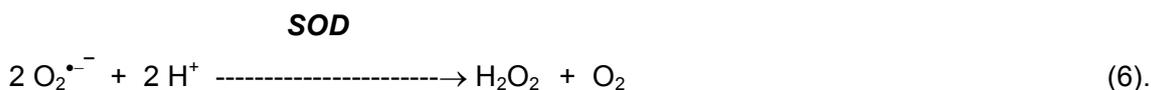
Sustancias químicas capaces de inactivar a las ERO limitando el daño y manteniendo el equilibrio pro-oxidante / antioxidante del organismo, y se pueden clasificar en enzimáticos y no enzimáticos.

I.2.1. Enzimáticos.

Se encuentran los sistemas enzimáticos: como la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT), las glutatión peroxidasas (GSH-Px) y la paraoxonasa (PON1).

I.2.1.a. Superóxido dismutasa (SOD).

Las isoformas de SOD son metaloenzimas que catalizan la dismutación del anión superóxido para producir oxígeno molecular y peróxido de hidrógeno (reacción 6).

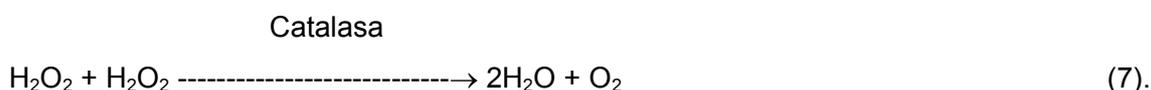


En mamíferos se han identificado tres isoformas de la SOD y las tres se sintetizan en los ribosomas citoplásmicos, todas productos de genes nucleares diferentes ^(Ho, 1991). Una contiene Cu y Zn (CuZnSOD) y se localiza principalmente en citoplasma de eucariontes, la SOD que contiene Mn (MnSOD) se encuentra principalmente en mitocondria, y la extracelular (EC-SOD) que también contiene cobre y zinc en su sitio activo, del 90-99% de la EC-SOD se localiza en los fluidos extracelulares ^(Marklund et al,1982)

La SOD no es realmente una enzima detoxificante, ya que el producto de su actividad, el peróxido de hidrógeno, es un agente tóxico. Sin embargo, la dismutación del anión superóxido es el primer paso de la cascada enzimática que conduce a la inactivación completa del anión superóxido formado. El segundo paso, depende de la enzima **catalasa**.

I.2.1.b. Catalasa (CAT).

Esta enzima antioxidante cataliza la transformación de peróxido de hidrógeno a agua. En mamíferos esta enzima está presente a altas concentraciones en hígado y riñón, y en bajos niveles en tejido conectivo ^(Nakashima et al,1989). En las células se ha localizado en el citosol, mitocondrias y organitos subcelulares como los peroxisomas (los peroxisomas son abundantes en las células epiteliales de túbulo proximal del riñón), mientras que en los eritrocitos la enzima existe en una forma soluble ^(Aebi et al,1982) (reacción 7)



I.2.1.c. Glutación peroxidasa (GSH-Px).

Las peroxidases son otras enzimas que catalizan la reducción de H₂O₂ por diversos donadores de electrones. Se han identificado hasta ahora cuatro tipos de GSH-Px (glutación oxidoreductasa, dependientes de selenio: 1) la que se encuentra en el citosol (**cGSH-Px**) es la más abundante selenoproteína en la rata y está presente virtualmente en todos los tejidos ^(Hill,1992). La cGSH-Px tiene la función de almacenamiento y de antioxidante bajo condiciones donde hay relativamente grandes cantidades de H₂O₂ o hidroperóxidos de lípidos que son producidos en el citosol ^(Burk et al,1991), 2) la plasmática (**pIGSH-Px**), es la responsable de toda la actividad peroxidasa en el plasma ^(Takahashi et al,1987) y se cree que juega un papel clave en el sistema de defensa antioxidante del plasma ^(Maddipati et al,1987), 3) la gastrointestinal (**gIGSH-Px**) el RNAm para gIGSH-Px se ha encontrado en hígado de humano y colon pero no en otros tejidos; en ratas el RNAm se ha detectado solo en el tracto gastrointestinal ^(Chu et al,1993). La localización de

esta isomorfa de glutatión peroxidasa, sugiere que juega un papel en la protección contra los efectos adversos de los hidroperóxidos de la dieta, y 4) la de fosfolípidos (**PLGSH-Px**), es abundante en los testículos y puede ser regulada por gonadotropinas^(Roveri et al,1992). También tiene un sitio de fosforilación, el cual puede tener un papel en la regulación de la actividad de la enzima^(Brigelius et al.,1994; Schuckelt et al,1991).

Las cuatro isoformas catalizan la oxidación del glutatión reducido (GSH) a glutatión oxidado (GSSG); que a su vez, es reducido por la enzima glutatión reductasa en presencia de NADPH (Figura 1), impidiendo así que se agoten las reservas de GSH ^(Spallholz et al,1990).

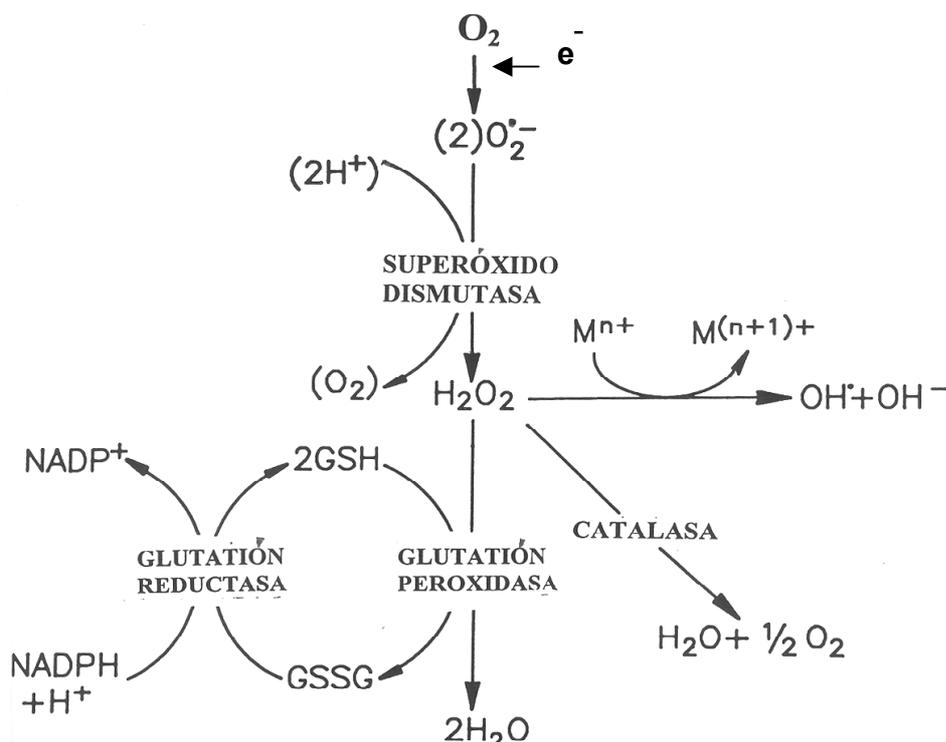


Figura 1. Esquema de enzimas antioxidantes superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (GSH-Px) y Glutatión reductasa.

I.2.1.d. Paraoxonasa (PON1).

Es una proteína de 354 aminoácidos con un peso molecular de 43 kDa, se localiza principalmente en el suero unida a las HDL, es muy frecuente en los mamíferos pero se encuentra ausente en los peces, aves e invertebrados tales como artrópodos ^(Mackness et al, 1996).

Es una esterasa dependiente de calcio estrechamente asociada a la apo A1 de las lipoproteínas de alta densidad (HDL). Se confiere propiedades antioxidantes sobre LDL ^(Ferretti et al, 2001). La PON1 es capaz de hidrolizar cierto número de sustratos, como el paraoxon, fenil acetato, peróxidos de lípidos, ésteres de colesterol, hidroperóxidos y H₂O₂; sin embargo, el sustrato fisiológico de PON1 es desconocido ^(Mackness et al, 1996). Es sintetizada por el hígado, el gen

de la PON1 esta localizado en el brazo largo del cromosoma 7 entre la posición q21.3 – q22.1, su actividad depende del polimorfismo (cambia un aminoácido en el sitio activo de la enzima y del cual se conocen dos sitios): El primero se localiza al sustituir un aminoácido en la posición 192 dando origen a dos aloenzimas (Q - R), donde la PON-R hidroliza al substratos del paraoxon y el fenitroxon, mientras que la PON-Q su actividad esta incrementada al hidrolizar diazoxon y sarín; por último tanto la PON-Q como la PON-R tienen la capacidad de hidrolizar el fenil acetato (Humbert et al,1993). El segundo polimorfismo del gen de la PON1 se sitúa en el aminoácido 55 desarrollando dos aloenzimas la PON-L y la PON-M. Este polimorfismo también afecta la actividad de la PON1 pero en menor intensidad que el polimorfismo 192 (Mackness et al,1997)

Esta enzima regulada genéticamente y por condiciones ambientales, es predictora de enfermedad vascular coronaria y su actividad puede ser incrementada por vitamina “C” y “E”(Jarvik et al, 2002).

I.2.2. No Enzimáticos (Vitaminas y Minerales)

Entre los no enzimáticos se encuentran los endógenos (glutación reducido, albúmina, bilirrubina, entre otros) y exógenos (destaca las vitaminas C, E y algunos minerales como manganeso, zinc, selenio que funcionan como cofactores de las enzimas antioxidantes.

I.2.2.a. Vitamina E (α -tocoferol).

Conformada por cuatro tocoferoles, de los cuales el más importante es el α -tocoferol. Es el principal antioxidante liposoluble y se encuentra tanto en el plasma vinculado con los lípidos circulantes como en todas las membranas celulares. En el ser humano, la proporción plasma-membrana es de 3:1. La concentración plasmática de la vitamina E depende de la cantidad aportada por los lípidos circulantes (perfil de lípidos) de cada persona. En el ser humano la vitamina E protege contra la lipoperoxidación, al actuar de manera directa sobre el HO^\bullet y $\text{O}_2^{\bullet-}$. A pesar de su breve vida media, el singulete de oxígeno también reacciona con el α -tocoferol (Hicks, 2001). La vitamina E es un potente antioxidante liposoluble transportado en las lipoproteínas de baja densidad (LDL), inhibe la proliferación de células musculares lisas in vitro y cuando es adicionada al plasma incrementa la resistencia a la oxidación de LDL. En un estudio realizado en una población de 87,245 enfermeras seguidas por 8 años (Stampfer et al, 1993) y en otro estudio realizado en profesionistas de la salud del sexo masculino involucrando a 39,910 seguidos por 4 años (Rimm et al, 1993) se detectó una asociación inversa entre los eventos cardiacos y el consumo de vitamina E.

I.2.2.b. Vitamina C (ácido ascórbico).

Es una molécula hidrosoluble, la cual interacciona prácticamente con los mismos oxiradicales que la vitamina E, pero con la ventaja adicional de su capacidad para regenerar la variante reducida (antioxidante) de la vitamina E al interactuar con el radical tocoperoxilo para regenerar el α -tocoferol a su estado activo. Sin embargo, es importante considerar que en presencia de metales de transición como por ejemplo en la hemólisis, la vitamina C es capaz de facilitar la producción de radicales libres al parecer sin vinculación con un aumento en la lipoperoxidación (Hicks, 2001).

El ácido ascórbico a concentraciones de 50 mM es capaz de prevenir la peroxidación de lípidos en plasma. El posible mecanismo de acción es; 1) inactivando radicales libres, previniendo así oxidantes acuosos al inicio de la peroxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), 2) modificando los residuos de histidina y otros sitios de unión de cobre sobre las apo B, 3) por incremento de la resistencia a oxidación LDL inducida por Cu^{++} , 4) destrucción de los peróxidos de lípidos formados, 5) previniendo la propagación de la peroxidación lipídica en LDL y 6) regenerando la LDL-asociada a α -tocoferol, por lo tanto inhibiendo peroxidación lipídica mediada por tocoferol en LDL (Frei et al, 1999).

I.2.2.c. β -caroteno.

Es un pigmento presente prácticamente en todas las plantas y el cual constituye el precursor de la vitamina A, con actividad antioxidante. Es la molécula que reacciona eficazmente con el singulete de oxígeno, sin embargo, la vitamina A no interacciona con el singulete de oxígeno y carece de actividad para la depuración de radicales libres (Hicks, 2001).

I.2.2.d. Glutati6n reducido (GSH).

El tripéptido (γ -glu-cys-gly) glutati6n, se sintetiza continuamente dentro de la célula y se degrada fuera de ella. Es el tiol celular más abundante; se mantiene a una concentración milimolar y es particularmente alta en el cristalino, en los eritrocitos de los mamíferos y en los cloroplastos de las plantas. El glutati6n tiene varias funciones, entre ellas; participa en la formación y ruptura de los puentes disulfuro de las proteínas y contribuye a desechar el peróxido de hidrógeno con la participación de la glutati6n peroxidasa. Puede interaccionar directamente con los radicales HO^\bullet , $\text{O}_2^{\bullet-}$, alcoxilo y peroxilo, dando lugar en la reacción a la formación del radical glutati6n (GS^\bullet) y eventualmente al dímero de glutati6n oxidado (GSSG) a través de una transferencia de radicales (Hicks, 2001).

I.2.2.e. Selenio.

El mineral selenio es de importancia fundamental en la salud humana. Su absorción se presenta en el segmento superior del intestino delgado, se transporta de forma inicial por la albúmina y subsecuentemente por la globulina alfa-2. El incremento en la ingesta con frecuencia produce una mayor excreción en la orina. El estado del selenio se evalúa mediante la medición del selenio o la glutatión peroxidasa en plasma, plaquetas y eritrocitos, o del selenio en sangre total u orina. Los requerimientos recomendados son 55 µg en la mujer y 70 µg en el hombre (Mahan et al, 1998). Es un constituyente de las selenoproteínas (glutatión peroxidasa), así como de funciones estructurales y enzimáticas; en un mejor contexto es un antioxidante y catalítico para la producción de hormona tiroidea activa (T₃). El selenio es necesario para el apropiado funcionamiento del sistema inmune y parece ser un nutriente clave para contrarrestar el desarrollo de virulencia. También se requiere para la motilidad del espermatozoide así como reducir el riesgo de aborto. Su deficiencia ha estado ligado a estrés oxidativo y cardiopatías: La enfermedad de Keshan y enfermedad de Kashin-Beck. (Rayman et al, 2000).

I.2.2.f. Zinc.

Es principalmente un ión intracelular que se concentra en mayor cantidad en el citosol. Se distribuye en todos los reinos vegetal y animal cuya abundancia ocupa el segundo lugar después del hierro. Dos a tres gramos se presentan en el cuerpo del adulto, con las concentraciones más elevadas en el hígado, páncreas, riñones, huesos y músculos voluntarios. Otros tejidos con concentraciones elevadas son algunas partes del ojo, próstata, espermatozoides, piel, cabello y uñas. El balance del zinc se mantiene mediante la velocidad de absorción y de excreción desde y hacia el intestino; una vez absorbido es captado inicialmente por el hígado antes de que se distribuya hacia otros tejidos. La albúmina es el transportador plasmático más importante, aunque cierta cantidad se transporta mediante la transferrina y por la alfa-2 macroglobulina. La mayor parte del zinc en sangre se encuentra en eritrocitos y leucocitos. Los requerimientos dietéticos 12-15 mg al día para la mujer y el hombre respectivamente.

El zinc participa en reacciones que conllevan la síntesis o degradación de metabolitos mayores, como carbohidratos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos; participa en la estabilización de ácidos nucleicos, proteínas y en la estructura de organelos subcelulares así como en el proceso de transporte, en la respuesta inmunológica y expresión genética.

La metalotioneína es la proteína que contiene zinc, más abundante, no enzimática que se conoce hasta ahora. Esta proteína de bajo peso molecular es rica en cisteína y excepcionalmente en metales. La función de esta proteína no está bien definida pero se ha

postulado una función en la absorción del zinc y posiblemente en la detoxificación de metales. El zinc es abundante en el núcleo, donde estabiliza la estructura del ácido ribonucleico (RNA) y el ácido desoxirribonucleico (DNA) y se requiere para la actividad de las polimerasas de RNA que son importantes en la división celular. El zinc también actúa en las proteínas de la cromatina que participan en la transcripción y replicación. También aparece en la estructura cristalina de los huesos, en las enzimas óseas y en la zona de demarcación. Se piensa que sea necesario para la actividad osteoblástica adecuada; la formación de enzimas óseas, como la fosfatasa alcalina y la calcificación (Mahan et al, 1998).

El zinc puede ejercer un número de funciones antioxidantes indirectas tales como; protección contra la depleción de vitamina E (Bunk et al,1989), estabiliza la estructura de la membrana celular (Bray et al,1990), restringe la producción endógena de radicales libres (Sakanashi et al,1993), contribuye en la estructura de la enzima antioxidante extracelular superóxido dismutasa (Davis et al,1998) y mantiene las concentraciones tisulares de las metaloproteínas como posible atrapador de radicales libres (Cousins et al,1985).

Finalmente es conveniente considerar el concepto de la capacidad antioxidante del plasma, la cual involucra la suma de los antioxidantes presentes en un organismo, sin importar su estructura pero capaces de inactivar y depurar los radicales libres de oxígeno de diferente origen (Hicks,1995).

I.3. Estrés oxidante.

El estrés oxidativo es definido como la pérdida del equilibrio entre los sistemas productores de radicales libres y los sistemas de defensa antioxidante, teniendo efectos deletéreos sobre los carbohidratos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, conduciendo a daño tisular (Jacob et al,1996).

I.3.1. Daño a Biomoléculas.

I.3.1.a. Ácidos nucleicos.

En las células eucariontes, la menor frecuencia de alteración la presentan los ácidos nucleicos debido a su localización celular (núcleo) y a las moléculas que los rodean al producir su empaquetamiento (cromosomas), sin embargo, el efecto de los RL puede provocar hidroxilación de las bases, entrecruzamiento y la escisión de las cadenas del DNA lo que causa mutaciones e inhibición de la síntesis de proteínas, nucleótidos y ácidos nucleicos (Fraga et al,1990). Estos cambios se han relacionado con el daño vascular en la progresión de la aterosclerosis e

incluso apoptosis. Igualmente se ha demostrado que el $O_2^{\bullet-}$ producido por las células endoteliales disminuye la actividad vasomoduladora del óxido nítrico y que el radical $^{\bullet}OH$ puede ser citotóxico para las células endoteliales (Smith et al,1992).

I.3.1.b. Carbohidratos.

La oxidación de los carbohidratos puede dar lugar a la formación de moléculas capaces de reaccionar con los grupos carbonilo de las proteínas.

I.3.1.c. Proteínas.

Prácticamente todos los aminoácidos pueden servir como blancos del ataque oxidativo por las ERO, aunque algunos aminoácidos son más susceptibles como la metionina, el triptófano, la fenilalanina, la tirosina, la cisteína y la histidina (Davies et al,1987 I; 1987 II; 1987 IV; Stadtman et al,1993). La modificación de las cadenas laterales de estos, puede conducir a la alteración directa de la estructura y la función de las proteínas (Silvester et al,1998; Ortega et al,1999) a la fragmentación química o al incremento en la susceptibilidad a proteólisis (Stadtman et al,1990; Davies et al,1987 I; Stadtman et al,1986; Wolff et al,1986).

Las proteínas también resultan particularmente sensibles al ataque por parte de los intermediarios o productos finales producidos por el daño de los radicales libres sobre los lípidos, como son los casos del alcoxilo (LO^{\bullet}) y el peroxilo (LOO^{\bullet}), el malondialdehído y el 4 hidroxinonenal (Uchida et al,1993; Bestervelt et al,1995). La histidina, la lisina y la cisteína resultan particularmente sensibles a este tipo de ataque (Uchida et al,1993).

I.3.1.d. Lípidos.

Los lípidos representan el grupo más susceptible debido a la presencia de dobles enlaces en sus ácidos grasos, y además por formar parte fundamental del organelo celular más expuesto: la membrana celular. Los RL causan la oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados de los fosfolípidos de la membrana celular y otros organitos subcelulares, evento denominado como lipoperoxidación; en donde un RL iniciador remueve un átomo de hidrógeno de un metileno de la cadena de carbonos, este hecho deja un electrón desapareado en el átomo de carbono y se forma un radical de ácido graso, éste; después de varios rearrreglos internos, reacciona con oxígeno molecular y produce un radical peroxil lípido que a su vez sustrae un segundo hidrógeno de otras moléculas de ácido graso; así se establece una reacción en cadena autocatalítica, de manera que aunque el RL iniciador produce sólo efectos locales y limitados, el radical secundario

y los productos de la degradación oxidativa, ocasionan la formación de RL con efectos amplificados a distancia del sitio donde se formó el primer RL (Figura 2) (Hicks, 2001).

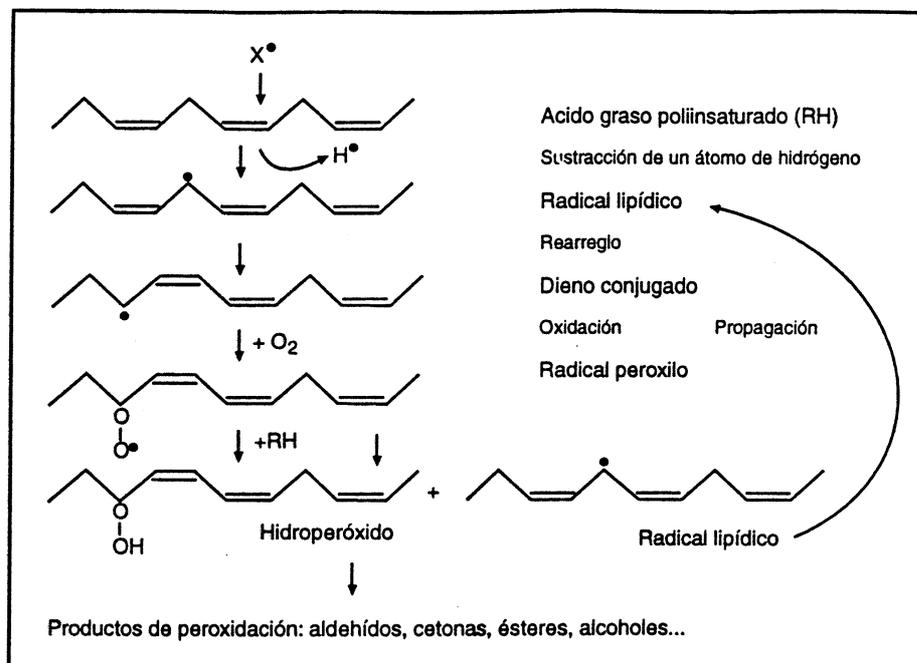


Figura 2. Cadena de eventos en la peroxidación de lípidos. X^\bullet representa un radical libre con energía suficiente para extraer un átomo de hidrógeno de un ácido graso insaturado.

I.4. Radicales libres en fisiopatología

Las afecciones vinculadas con el daño debido a los radicales libres se interrelacionan estrechamente con la naturaleza de las reacciones en las que intervienen tales radicales libres y las moléculas con las cuales interaccionan éstos. Esta constituye la razón de que se encuentren involucrados en la causa de numerosos padecimientos. Algunos estados clínicos padecimientos vinculados (y sustentados por la literatura médica internacional) con la intervención de los radicales libres y las especies reactivas del oxígeno se presentan a continuación: a) Inflamación y padecimientos inmunitarios, b) reacciones inducidas por fármacos y toxinas, c) daño por radiación, d) envejecimiento, e) cambios vinculados con los eritrocitos, f) trastornos neumológicos, g) anomalías del sistema vascular y corazón, h) trastornos nefrológicos, i) alteraciones de las vías gastrointestinales, j) trastornos del sistema nervioso y neuromusculares, k) padecimientos oftalmológicos, l) trastornos tegumentarios y m) los estados de isquemia reperfusión "embolias, rechazo de transplante, daño por congelación e infarto agudo del miocardio" (Hicks, 2001).

I.5. Isquemia reperusión.

La isquemia se define como la detención súbita de la circulación arterial en una parte de tejido secundario a la oclusión parcial o completa de la luz, pudiendo ser de forma experimental (inducida) o natural (aterosclerosis) y la reperusión es una medida terapéutica que consiste en permeabilizar el vaso ocluido para restablecer el flujo sanguíneo al tejido isquémico a través de métodos farmacológicos (fibrinólisis, antiagregantes plaquetarios) o por métodos quirúrgicos "cateterismo cardiaco, angioplastía coronaria percutánea, revascularización, entre otras" (García-Dorado, 1992)

En particular, la reperusión del flujo sanguíneo coronario, es necesario para rehabilitar al miocardio con hipoxia o isquemia. Algunas veces la reperusión facilita salvar al cardiomiocito y disminuir la mortalidad y morbilidad cardiaca. La reperusión de una área isquémica puede resultar sin embargo en disfunción paradójica cardiomiocítica, un fenómeno llamado "Daño por Reperusión". Las modalidades de reperusión incluyen la trombólisis, intervención coronaria percutánea, cirugía cardiaca -puente arterial coronario- y trasplante cardíaco. El daño por reperusión se ha observado en cada una de estas situaciones (Verma et al, 2002).

El miocardio puede tolerar breves períodos de isquemia severa (aproximadamente 15 min) sin tener muerte del cardiomiocito como sucede en algunas situaciones clínicas como la angina, espasmo coronario y angioplastía con balón (Kloner et al, 2001). Cuando la isquemia severa se prolonga (>30 min) el daño al cardiomiocito es mayor predisponiendo a un espectro de patologías asociadas a reperusión. El daño por reperusión resulta en lesión del cardiomiocito manifestado como miocárdio aturdido, daño endotelial/ microvascular y daño celular irreversible o necrosis llamado daño letal por reperusión (Yellon et al, 2000).

El miocárdio aturdido es la manifestación mejor establecida del daño por reperusión y se define como "disfunción prolongada post-isquémica del tejido viable salvado por reperusión" (Ambrosio et al, 2001). En este campo la reperusión del tejido de miocardio isquémico en forma regional o global resulta de un período prolongado pero aún reversible de disfunción contráctil y su recuperación completa llevará un período prolongado (Kloner et al, 2001).

La disfunción microvascular es otra manifestación de daño por reperusión. La reperusión causa una disfunción celular endotelial muy marcada, la cual resulta en vasoconstricción, activación leucocitaria y plaquetaria, incremento en la producción de radicales libres así como en la extravasación de proteínas y fluidos. En las últimas dos décadas se han estudiado múltiples intervenciones con agentes potencialmente protectores tanto para la isquemia como en el daño por reperusión. De las cuales se encuentran; la estimulación con agentes inotrópicos del miocárdio aturdido, inhibición de la bomba sodio-potasio, estimulación de cardioprotectores

endógenos, estimulación del metabolismo aerobio del miocardio con insulina y la terapia con antioxidantes. (Granger et al,1999)

I.6. Evidencias de la relación entre estrés oxidativo y el fenómeno isquemia-reperusión.

La producción de radicales libres se ha demostrado durante el fenómeno de isquemia-reperusión como en la enfermedad vascular cerebral "isquémico o hemorrágico" (Muhammad, 2000), tromboembolia pulmonar, trombosis arterial aguda (Coolen et al, 2002), en los trasplantes de órganos así como en el síndrome coronario agudo "angina inestable hasta el infarto agudo del miocardio".

La presencia del estrés oxidativo juega un papel importante en el daño por reperusión en el infarto agudo del miocardio, con la producción masiva de radicales libres dentro del miocito específicamente en la mitocondria y el citosol (Braunwald et al,1985) ó por otras vías alternas fuera del miocito cardíaco como la activación de los neutrófilos (Fantone et al,1982), también a partir de la cascada de ácido araquidónico y en algunas especies por oxidación de las xantinas endoteliales (Karmazyn et al,1983).

I.6.1. Evidencias de la participación de radicales libres en el IAM.

a. Se ha demostrado la prevención de la lipoperoxidación en el IAM (daño por reperusión) al haber agregado al tratamiento vitamina "C" en conjunto con el diltiazem teniendo como parámetro de medición de estrés oxidativo los niveles de malondialdehído (MDA) (Demirag et al,2001).

b. La vitamina C en conjunto con la vitamina E disminuyen la lipoperoxidación y los trastornos eléctricos (arritmias) que se generan posteriores a la reperusión miocárdica (Chamiec et al,1996).

c. El desarrollo de un proceso isquémico conlleva la presencia de proceso inflamatorio local (agudo) manifestado por la activación de los neutrófilos y como consecuencia la producción de radicales libres de oxígeno. Se ha reportado que la administración de suplemento alimenticio con vitamina C y E suprime la activación de los neutrófilos y la producción de radicales libres de oxígeno en pacientes con cardiopatía isquémica (Herbaczynska et al,1995).

d. En un estudio en ratas se demostró que con la administración de la vitamina C a dosis de 100 mg / kg / día, vitamina "E" a dosis de 100 mg / kg / día y ambas vitaminas a las misma dosis; incrementaba la actividad endógena de la superóxido dismutasa (SOD) acompañada de

decremento en la concentración de anión superóxido y la inhibición de la agregación plaquetaria (Mehta et al, 1999).

e. Existe evidencia posterior a la reperfusión durante la cirugía de revascularización coronaria de la presencia de reducción transitoria en la concentración de glutatión (GSH) e incremento de GSSG en un grupo expuesto a menos de 30 minutos de isquemia; en cambio cuando la isquemia se prolonga o es mayor de 30 minutos se mantienen constantes y elevadas las concentraciones de GSSG, encontrando así una correlación negativa entre el incremento de GSSG y el tiempo de recuperación funcional del corazón (Ferrari et al, 1990).

f. La producción de Malondialdehído (MDA) en el IAM se ha utilizado como parámetro para medir la peroxidación de lípidos. En un ensayo clínico se demostró en plasma de sangre periférica, el pico máximo de concentración de MDA a las 9 horas de realizado trombólisis en el grupo control; mientras que en el grupo tratado con antioxidante (N-acetilcisteína) el pico máximo de MDA fue a las 2 horas posteriores a la trombólisis (Arstall et al, 1995).

I.7. Infarto agudo del miocardio.

El síndrome coronario agudo tiene un mismo origen fisiopatológico, pero se ha dividido para fines terapéuticos en; a) angina inestable, b) infarto agudo de miocardio sin elevación del segmento ST y c) infarto agudo de miocardio con elevación del segmento ST, éste se inicia con la ruptura de una placa aterosclerosa en la circulación coronaria, activando la cascada de la coagulación y agregación plaquetaria, formación de un trombo y reducción abrupta del flujo sanguíneo coronario. El infarto sin elevación del segmento ST electrocardiográfico y la angina inestable son producidas por oclusión coronaria total transitoria con reperfusión espontánea, pero en el infarto con elevación del segmento ST, esta oclusión es sostenida y requiere de algún procedimiento de trombólisis o mecánico como la angioplastia o revascularización para restablecer la circulación. El tratamiento del infarto agudo de miocardio está enfocado a permeabilizar la coronaria obstruida lo más pronto posible y reducir el riesgo de re-oclusión de ese vaso. (Schulman et al, 2001).

El diagnóstico de infarto agudo de miocardio con elevación del segmento ST se basa inicialmente en parámetros clínicos por la presencia de dolor precordial tipo anginoso con duración mayor a 30 minutos que no cede a la administración de vasodilatadores sublinguales, un segundo parámetro es el electrocardiográfico por la presencia de elevación del segmento ST de por lo menos 1 mm en dos o más derivaciones bipolares y en V3r, V4r, V5r y en V5, V6, V7,

V8, V9 de 2 mm en V1- V4, un tercer parámetro es una curva enzimática con elevación de la enzima creatin fosfoquinasa (CPK) en su fracción MB (Kleinman et al, 1994).

La mortalidad total en los días 0 – 35 es de 11.5% en quienes no reciben tratamiento fibrinolítico y se reduce a 9.6% en quienes son trombolizados dentro de la ventana terapéutica. En este último grupo fallecen el 18.7% de los que presentan bloqueo de rama izquierda del haz de his (BRIHH), el 13.2% con infarto anterior y 7.5% con infarto inferior. De los pacientes con infarto agudo al miocárdio (IAM) el 76% son hombres y 24% son mujeres, sin embargo; la mortalidad es del 8.2% vs 14.1% respectivamente. Cuando existe hipotensión sistólica menor a 100 mmHg la mortalidad se eleva a 28.9%, la frecuencia cardiaca >100 latidos por minuto (lpm) y la Diabetes Mellitus tipo 2 (DM-2) presente en el 15% de los pacientes que se infartan incrementa la mortalidad a 13.6%. Pese a que la mayor mortalidad en los pacientes con trombólisis entre las 7-12 horas de iniciado el IAM, 35/1000 vidas son salvadas si la terapia es aplicada dentro de la primera hora de evolución y 25/1000 si se aplica dentro de la segunda y tercera hora. (EMERAS, 1993).

II. JUSTIFICACIÓN.

Las enfermedades cardiovasculares son la primera causa de muerte en el país y de este rubro el IAM es la entidad patológica más frecuente y con comportamiento creciente. La causa más frecuente de muerte es por arritmias en el momento del infarto, el pronóstico esta dado por el tamaño del infarto, la presencia de choque cardiogénico, el tiempo de retraso en la trombólisis y las complicaciones pos-trombólisis, que son en orden de frecuencia: eléctricas (arritmias), isquemia residual post-infarto, extensión del infarto, insuficiencia cardiaca, complicaciones mecánicas. La apertura del flujo coronario ya sea con cirugía de injerto coronario, angioplastia o trombólisis; genera entre otros cambios fisiológicos la producción de especies reactivas de oxígeno las cuales están ampliamente documentadas como responsables del daño a las diferentes biomoléculas y de la muerte celular. Es por ello, que el presente ensayo clínico pretende demostrar que con la administración de agentes antioxidantes en los pacientes con IAM, disminuya posiblemente el estrés oxidante en el evento agudo, lo que podría reflejarse como una mejora en la función cardiaca y disminución de arritmias en el paciente con infarto.

III. HIPOTESIS.

El estrés oxidante presente en el proceso de isquemia-reperfusión durante el IAM, se reduce con la ingesta de una mezcla de agentes antioxidantes y mejora la función cardíaca y reduce las complicaciones eléctricas por incremento en la capacidad antioxidante.

IV. OBJETIVO.

Determinar si una mezcla de agentes antioxidantes aumenta la capacidad antioxidante y disminuye los niveles en plasma de los compuestos reactivos al ácido tiobarbitúrico (CRAT) en individuos con trombólisis por IAM.

V. MATERIAL Y METODOS.

V.1. Reactivos.

Trisma pre-set, ácido tiobarbitúrico (TBA), ácido clorhídrico (HCl), ácidos grasos (linoléico y linolénico), cloruro ferroso (FeCl_2), reactivo folín-ciocalteu y el paraoxon fueron obtenidos del laboratorio SIGMA. Peróxido de hidrógeno (H_2O_2), bicarbonato de sodio (Na_2CO_3), tartrato de sodio, hidróxido de sodio (NaOH), sulfato de cobre (CuSO_4) fueron adquiridos por laboratorios Baxter. El hidroxitolueno butilado (BHT) de fabricación por laboratorios Merck y la heparina por laboratorios Pisa.

V.2. Captación de pacientes.

Se captaron pacientes por medio de muestreo de casos consecutivos que ingresaron al servicio de urgencias adultos del Centro Médico Nacional La Raza (C.M.N.R) en la unidad de choque con diagnóstico de IAM en evolución con menos de 6 horas de iniciado el cuadro clínico y corroborado por electrocardiograma (EKG) con elevación del segmento ST (igual o mayor de 1 mV en por lo menos dos derivaciones contiguas) y elevación de las enzimas cardíacas creatin fosfocinasa (CPK MB), deshidrogenasa láctica (DHL) y transaminasa glutámico oxalacética (TGO) en plasma; en los turnos matutino y vespertino en el tiempo comprendido de 1º mayo 2003 al 1º de mayo 2004 y que además se cumplieran con los criterios de selección. Se tranquilizó al paciente y se expuso la carta de consentimiento para el estudio (**ANEXO 1**).

V.2.a. Criterios de selección:

Criterios de inclusión:

- Pacientes con IAM en evolución con menos de 6 h de iniciado el cuadro clínico, corroborado por EKG y enzimas cardíacas.
- Cualquier sexo.
- De 30 a 65 años.
- Que acepten entrar al estudio por medio de carta de consentimiento.
- Pacientes que sean derechohabientes del IMSS.

Criterios de no inclusión:

- Cirugía mayor con menos de 6 meses de haber sido realizada.
- Enfermedad vascular cerebral (hemorrágico-isquémica).
- Úlcera gástrica en tratamiento.
- Enfermedades hematológicas con trastornos de la coagulación.
- Traumatismo craneoencefálico menor de 2 meses.
- Alergia al trombolítico (estreptoquinasa).
- Uso de estreptocinasa en infarto miocardio previo menor de 2 años.
- Estado de choque cardiogénico desde su ingreso.
- Alergia a fármaco experimental.
- Mujer embarazada.
- Sangrado activo a cualquier nivel.
- RELATIVOS: Descontrol hipertensivo, Mujeres en período menstrual.

Criterios de eliminación:

- Que el paciente quiera abandonar el estudio en cualquier momento.

V.3. Diagnóstico del IAM.

El investigador corroborará el IAM en evolución por medio de electrocardiograma (EKG), cuadro clínico y enzimas cardíacas; además de establecer el sitio de infarto.

Se verificará que se apliquen las medidas pertinentes para la atención del paciente con IAM ya establecido por el consenso de la American College Cardiology (ACC) y la American Heart Association (AHA) del 2000.

Se colocará un catéter central por vía venosa braquial (basílica / cefálica), corroborándose la punta del catéter en la aurícula derecha por medio de una placa de Rx de tórax con administración de medio de contraste hidrosoluble.

V.4. Administración de la mezcla de agentes antioxidantes.

Una vez establecido el diagnóstico de infarto y de acuerdo a la aleatorización de los pacientes se aplicó por vía oral cápsulas similares en su textura que contenía una mezcla de agentes antioxidantes [vitamina C (100 mg), vitamina E (100 mg), zinc (15 mg) y selenio (70 µg)] y una cápsula con contenido de solución salina 0.9% (el cual se le designó al grupo placebo). Se les administró dos cápsulas al tiempo: 0 h (admisión hospitalaria del paciente en unidad de choque), y una cápsula en los tiempos 1 h (fin de la trombólisis) 4 y 12 h de seguimiento.

La trombólisis se realizó con estreptocinasa 1,500,000 UI para ser administrada por vía endovenosa por medio de un catéter central a pasar en 60 minutos.

V.5. Obtención del plasma.

Se tomó una muestra de 2 ml de sangre del catéter central que se halla en aurícula derecha antes de la trombólisis, 1 h (al finalizar la trombólisis), a las 4, 12 y 24 h de trombólisis.

Se depositó la muestra de sangre en un tubo ependorff que contenía heparina (10 µl) y el hidroxitolueno butilado (10 µl de una solución al 0.2 mM) que es un antioxidante, con la finalidad de detener la oxidación en el momento de haber obtenido la muestra de sangre; a cada una de las muestras se les colocó un membrete con nombre del paciente; posteriormente, se centrífugo por 10 min a 3500 rpm. Una vez separado el plasma se almacenó a 4 °C hasta el momento de su análisis (tiempo mínimo-máximo 24-48 horas, respectivamente). Las muestras de plasma se analizaron en laboratorio al día siguiente de haber sido obtenidas las cinco muestras del paciente. ^(Hicks, 1995).

V.6. Seguimiento.

Se llevó control electrocardiográfico con fines de detección oportuna de arritmias en papel impreso y a través de la consola (disco duro) de monitor en las primeras 24 horas como lo marca la guía de atención del IAM establecida por la American College Cardiology (ACC) y la American Heart Association (AHA) del 2000.

Se anotó en la hoja de registro los factores de riesgo coronario, parámetros bioquímicos como curva enzimática, biometría hemática, química sanguínea, parámetros hemodinámicos, comportamiento clínico en las primeras 24-horas de iniciado el IAM, así como los niveles plasmáticos de compuestos reactivos al ácido tiobarbitúrico (CRAT), capacidad antioxidante total (CATP) y paraoxonasa (PON1)(**ANEXO 2**).

V.7. Determinación de la capacidad antioxidante total del plasma (CATP).

Se expusieron ácidos grasos poli-insaturados (ácido linoléico y ácido linolénico 90 µM en amortiguador Tris pre-set a pH 8 7.2 mM a radicales libres de tipo hidroxilo, generados por una reacción de Fenton (H₂O₂ + FeCl₂ en amortiguador Tris pre-set a pH 8 7.2 mM) en presencia de 10 µl de plasma y se incubó durante 10 minutos a 37°C. Se añadió 1 ml de TBA al 0.375% y se calentó a 90°C durante 15 minutos, agregando 500 µl de HCl 0.2N.

La capacidad antioxidante del plasma para inhibir la oxidación de los ácidos grasos por los HO• fue representada en Unidades (U) / mg proteína donde 1 U se define como la cantidad de antioxidantes totales en el plasma necesarios para inhibir el 50% de la formación de CRAT de una solución 90 µM de ácidos grasos (ácido linoléico y ácido linolénico) expuestos a radicales HO•. Las unidades se ajustaron por mg de proteína por el método de Lowry.

V.8. Determinación de los compuestos reactivos al ácido tiobarbitúrico (CRAT) en plasma.

Se mezclaron 490 µl de amortiguador Tris pre-set pH 7.2 mM, 10 µl de plasma y 1 ml de ácido tiobarbitúrico (TBA) 0.375%. Posteriormente se calentó a 90°C durante 15 minutos y se le agregaron 500 µl de HCl 0.2 N. La absorbancia fue medida a 532 nm a 25°C en un espectrofotómetro marca Bekman. Se utilizó 1,1,3,3-tetrametoxipropano como estándar ^(Hicks, 1995).

V.9. Determinación de la actividad de paraoxonasa (PON1) en plasma.

Para determinar la actividad de la PON1 en plasma se utilizó el dietil (p-nitrofenol) fosfato (paraoxon), hidrolizando la molécula a nivel del fosfato, creando una molécula de p-nitrofenol y di-etilfosfato.

Se mezclaron 5 mM de paraoxon (Dietil p-nitrofenol fosfato como sustrato), 90 mM de amortiguador Tris pre-set HCl pH 8.5, CaCl₂ 1.9 mM y NaCl 3.6 mM de esta mezcla se agregaron 480 µl y 20 µl de plasma. La absorbancia fue medida a 405 nm a 37°C en un espectrofotómetro marca Bekman.

V.10. Aspectos éticos.

No tuvo implicaciones éticas en vista de que las intervenciones invasivas como lo es colocar un catéter venoso central es parte de la atención ya establecida por la ACC y la AHA en las Guías de atención en los pacientes con infarto agudo del miocardio del 2000.

La investigación conlleva un riesgo mayor al mínimo de acuerdo a la Ley General de Salud contenida en la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos en materia de

investigación para la salud en seres humanos, título V y VI, publicada en el Diario Oficial de la Federación del 6 enero de 1987.

Se apegó a las normas establecidas en el Instructivo de Investigación Médica de I.M.S.S, contenidas en el Manual de Organización de la Dirección de Prestaciones Médicas y Coordinación de Investigación Médica de 1996.

Se apegó a los principios de la Asamblea Médica Mundial para la investigación en seres humanos, establecidos en la Declaración de Helsinki en 1964 y sus diferentes revisiones hasta las de Hong Kong, en 1989.

En cada caso se obtuvo una carta de consentimiento informado que contuvo los propósitos y objetivos de la investigación, los beneficios y posibles riesgos como las molestias e inconvenientes de la participación del paciente y sus familiares, así como también el derecho de haberse retirado en cualquier momento y por cualquier motivo de la investigación, sin detrimento en su atención médica. Los resultados de la investigación fueron confidenciales.

V.11. Análisis estadístico.

Se utilizó la prueba t de Student y t pareada para comparar las variables cuantitativas continuas con distribución normal; así como de chi cuadrada y exacta de Fisher para comparar las variables cualitativas, comparativamente entre los dos grupos de estudio. Se aplicó la prueba t pareada para comparar los valores cuantitativos continuos con distribución normal antes y después del tratamiento para un mismo grupo. La prueba de ANOVA seguida de la prueba de Tukey, se empleo para el análisis de las concentraciones de CRAT, CATP y actividad de PON1 en los diferentes tiempos establecidos de muestreo. Se consideró significativa una $p < 0.05$, con un alfa de 0.05 y potencia 80%.

VI. RESULTADOS.

VI.1. Aspectos clínicos básicos del infarto agudo del miocardio (IAM).

Características.	Grupo Placebo n = 16	Grupo MAA n = 16	P
Edad (años).	§61.4 ± 11.7	§ 58.0 ± 8.7	P = 0.34 †
Sexo (Hombre / Mujer).	13 / 3	14 / 2	P = 1.0 ‡
Talla (m).	§1.64 ± 0.090	§ 1.62 ± 0.096	P = 0.67 †
Peso (Kg).	§76.35 ± 9.7	§ 68.88 ± 12.5	P = 0.06 †
Diabetes Mellitus.	7 / 16	10 / 16	P = 0.48 ¥
Hipertensión Arterial.	8 / 16	5 / 16	P = 0.47 ¥
Tabaquismo.	14 / 16	11 / 16	P = 1.0 ‡
Índice Masa Corporal.	§28.47 ± 0.90	§ 25.96 ± 0.88	P = 0.06 †
Dislipidemia.	9 / 16	9 / 16	P = 0.72 ¥
Angina.	2 / 16	1 / 16	P = 1.0 ‡

Tabla 1. Características clínicas. § = Media ± Error Estándar. † = t Student. ¥ = Chi-cuadrada. ‡ = Exacta de Fisher. MAA: Mezcla de agentes antioxidantes.

De 35 pacientes elegidos de forma aleatoria consecutivamente, solamente 32 fueron admitidos en el estudio. Uno de ellos no fue incluido por haber estado ingiriendo antioxidantes antes de entrar al estudio, y los dos pacientes restantes no se ingresaron para estandarizar la técnica de laboratorio. Los dos grupos fueron estratificados por edad, sexo, talla, peso, diabetes mellitus tipo 2, hipertensión arterial sistémica, tabaquismo, obesidad, dislipidemia y presencia de angina inestable previo al infarto, como lo muestra la Tabla 1.

VI.2. Aspectos bioquímicas y hemodinámicas del IAM.

Característica	Grupo Placebo.	Grupo MAA	P.
CPK UI / L.			
0 horas.	254 ± 52	337 ± 49	p = NS. †
1 horas.	529 ± 76	786 ± 86	p = 0.032 †
4 horas.	1050 ± 187	1504 ± 157	p = NS. †
12 horas.	1812 ± 267	2155 ± 212	p = NS. †
24 horas.	1206 ± 193	1371 ± 136	p = NS. †
DHL UI / L.			
0 horas.	204 ± 30	169 ± 14	p = NS. †
1 horas.	279 ± 29	236 ± 20	p = NS. †
4 horas.	376 ± 43	365 ± 25	p = NS. †
12 horas.	609 ± 74	543 ± 39	p = NS. †
24 horas.	504 ± 63	568 ± 71	p = NS. †
TGO UI / L.			
0 horas.	63 ± 10	43 ± 4	p = NS. †

1 horas.	118 ± 23	86 ± 5	p = NS. †
4 horas	187 ± 36	147 ± 14	p = NS. †
12 horas	276 ± 49	230 ± 20	p = NS. †
24 horas	217 ± 30	194 ± 19	p = NS. †
Localización:			
Postero-inferior.	8	12	p = NS. ¥
Anteroseptal.	8	4	p = NS. ¥
Retraso en TBL (min)	230 ± 28.7	213 ± 23.7	p = NS. †
Killip Kimball:			
I	10	11	p = NS. ¥
II	5	4	p = NS. ¥
III	1	1	p = NS. ¥
PA Sistólica mmHg.	118 ± 7.4	120 ± 5.3	p = NS. †
PA Diastólica mmHg.	72 ± 5.1	75 ± 3.6	p = NS. †
PAM. mmHg	86 ± 5.3	90 ± 3.9	p = NS. †
PVC cm H ₂ O	9 ± 0.7	11 ± 1.0	p = NS. †
FC por minuto.	85 ± 5.7	76 ± 8.9	p = NS. †
FR por minuto.	23 ± 0.9	22 ± 1.0	p = NS. †
Temperatura ° C.	36 ± 0.1	36 ± 0.1	p = NS. †
Hematocrito (%)	46 ± 1.0	45 ± 1.1	p = NS. †
Hemoglobina.(gr / dl).	15 ± 0.4	14 ± 0.3	p = NS. †
Bilirrubina Directa (mg / dl).	0.4 ± 0.1	0.3 ± 0.03	p = NS. †
Bilirrubina Indirecta (mg / dl).	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.02	p = NS. †
Glucosa (mg / dl).	212 ± 26	230 ± 30	p = NS. †
Creatinina (mg / dl).	1.3 ± 0.06	1.5 ± 0.1	p = NS. †

Tabla 2. Características bioquímicas y hemodinámicas. § = Media ± Error Estándar. † = t student. ¥ = Chi-cuadrada. CPK (Creatin fosfocinasa), DHL (Deshidrogenasa láctica), TGO (Transaminasa glutámico oxalacética), TBL (Trombólisis), PA (Presión arterial), PAM (Presión Arterial Media), PVC (Presión Venosa Central), FC (Frecuencia cardiaca), FR (Frecuencia respiratoria). MAA: Mezcla de agentes antioxidantes.

Dentro de las características bioquímicas se analizó el perfil enzimático cardíaco del cual solamente se detectaron diferencias significativas ($p = 0.032$) en la primera hora en el grupo tratado con la mezcla de agentes antioxidantes (MAA), en el seguimiento de enzimas (DHL y TGO) no hubo diferencias. El hematocrito, la hemoglobina, las bilirrubinas, la glucosa y la creatinina en su análisis estadístico no presentaron diferencias entre ambos grupos. El sitio de infarto más frecuente detectado fue de localización postero-inferior y anteroseptal. El tiempo en el retraso en la trombólisis fue similar en ambos grupos. Los parámetros hemodinámicos como la clasificación de killip-kimball, la presión arterial (sistólica, diastólica, media), la presión venosa, la frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria y la temperatura no mostró diferencia intergrupar. Esto muestra que los grupos fueron homogéneos y los resultados obtenidos en la medición de CATP, CRAT, PON1, leucocitos, (%) neutrófilos y arritmias cardíacas son debido a la maniobra de intervención (MAA).

VI.3. Capacidad antioxidante total en plasma durante el IAM.

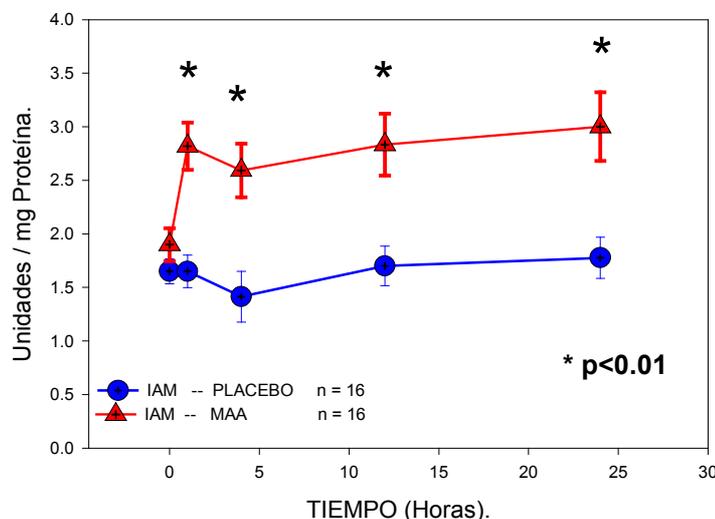


Figura 3. Concentración de Capacidad antioxidante total plasmática (CATP) en el IAM, mezcla de agentes antioxidantes (MAA), n = 32, (promedio ± EE). Prueba de ANOVA seguida de Tukey.

La cuantificación en plasma de CATP determinada durante las 24 horas posteriores a su admisión hospitalaria por diagnóstico de infarto agudo del miocárdico (IAM) mostró que a su ingreso del estudio ambos grupos presentaron concentraciones similares (1.65 ± 0.36 y 1.89 ± 0.39 Unidades / mg proteína, grupo placebo y grupo MAA, $p = \text{NS}$). En el grupo tratado como medida coadyuvante con una mezcla de agentes antioxidantes (MAA) presentó incremento significativo desde la primera hora de administrada la mezcla (2.81 ± 0.66 Unidades / mg proteína), a las 4 horas de trombólisis se detectó un ligero descenso (2.59 ± 0.77 Unidades / mg proteína) manteniéndose incrementada la concentración CATP con pico máximo detectado a las 24 horas (3.00 ± 0.95 Unidades / mg proteína). Mientras que en el grupo placebo las concentraciones de CATP fueron inversas, es decir; en la primera hora (fin de trombólisis) presentó una concentración de CATP similar que a su ingreso hospitalario (1.65 ± 0.44 Unidades / mg proteína) con pico máximo en descenso en concentración a las 4 horas de trombólisis (1.41 ± 0.72 Unidades / mg proteína). En las dos mediciones restantes a las 12 y 24 horas de la trombólisis presentaron un ligero incremento de la concentración basal registrada (1.70 ± 0.53 y 1.77 ± 0.61 Unidades / mg proteína, respectivamente) figura 3.

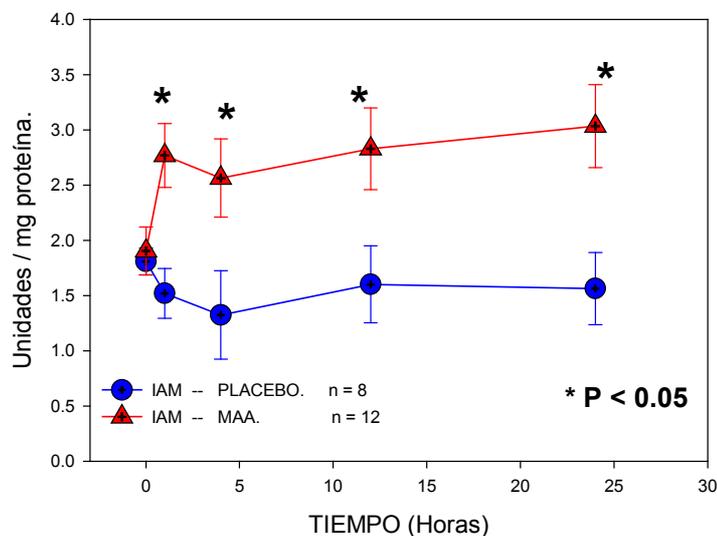


Figura 4. Concentración de CATP en el IAM de **localización postero-inferior**, grupo tratado con mezcla de agentes antioxidantes (MAA) n = 12, grupo placebo n = 8, (promedio \pm EE). Prueba de ANOVA seguida de Tukey.

De acuerdo al sitio anatómico de lesión cardíaca (postero-inferior) se cuantificó y graficó la concentración CATP determinada durante las 24 horas posteriores a su admisión hospitalaria por diagnóstico IAM encontrando un comportamiento similar a la figura 3, es decir; se registraron diferencias significativas estadísticamente en los cuatro tiempos de seguimiento de la enfermedad. En la primera hora (1.52 ± 0.22 y 2.76 ± 0.28 Unidades / mg proteína, grupo placebo y grupo de MAA respectivamente, $p < 0.05$), a las 4 horas de trombólisis (1.32 ± 0.40 y 2.56 ± 0.35 Unidades / mg proteína, grupo placebo y grupo de MAA respectivamente, $p < 0.05$), a las 12 horas de trombólisis (1.60 ± 0.34 y 2.82 ± 0.36 Unidades / mg proteína, grupo placebo y grupo de MAA respectivamente, $p < 0.05$) y a las 24 horas de seguimiento (1.56 ± 0.32 y 3.03 ± 0.37 Unidades / mg proteína, grupo placebo y grupo de MAA respectivamente, $p < 0.05$) figura 4.

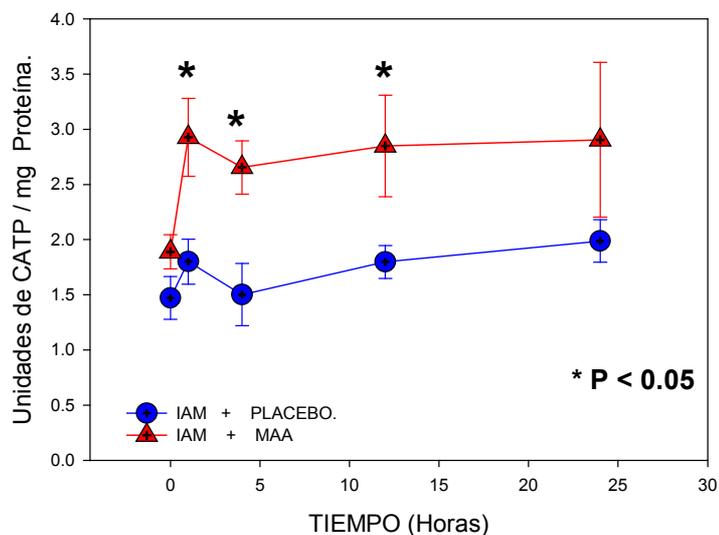


Figura 5. Concentración de CATP en el IAM de **localización anteroseptal**, grupo tratado con mezcla de agentes antioxidantes (MAA) n = 4, grupo placebo n = 8, (promedio ± EE). Prueba de ANOVA seguida de Tukey.

La localización de isquemia anteroseptal fue el segundo sitio más frecuente registrado en el estudio. Se cuantificó la concentración de CATP determinada durante las 24 horas posteriores a trombólisis por diagnóstico IAM. Solamente se detectaron diferencias estadísticas en la concentraciones de CATP en tres tiempos de seguimiento: primera hora de trombólisis (1.80 ± 0.20 y 2.92 ± 0.35 Unidades / mg proteína, grupo placebo y grupo de MAA respectivamente, $p < 0.05$), 4 horas de trombólisis (1.50 ± 0.28 y 2.65 ± 0.24 Unidades / mg proteína, grupo placebo y grupo de MAA respectivamente, $p < 0.05$) y a las 12 horas de seguimiento (1.79 ± 0.14 y 2.84 ± 0.45 Unidades / mg proteína, grupo placebo y grupo de MAA respectivamente, $p < 0.05$). En los tiempos 0 y 24 horas del estudio no se detectaron diferencias significativas, figura 5.

VI.4. Características oxidativas básicas (productos de lipoperoxidación) en plasma durante el IAM.

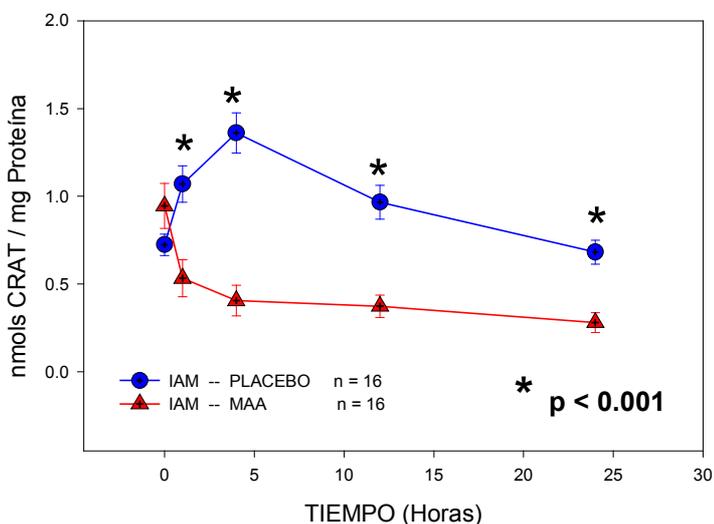


Figura 6. Concentración de compuestos reactivos al ácido tiobarbitúrico (CRAT) en el IAM, mezcla de agentes antioxidantes (MAA), n = 32, (promedio ± EE). Prueba de ANOVA seguida de Tukey.

Figura 6 que muestra una curva convexa con pico máximo a las 4 horas de seguimiento con retorno a valores básicos en la concentración de CRAT en plasma al final del estudio en el grupo placebo, mientras que se gráfico una curva inversa con decremento continuo y pico máximo a las 4 horas de seguimiento en el grupo tratado con la MAA. Hallando diferencias estadísticas intergrupales desde la primera hora de admisión hospitalaria y al final del estudio. En la primera hora de seguimiento (1.07 ± 0.31 y 0.53 ± 0.29 nmol CRAT / mg proteína, grupo placebo y grupo de MAA respectivamente, $p < 0.001$) a la cuarta hora de seguimiento (1.36 ± 0.37 y 0.40 ± 0.23 nmol CRAT / mg proteína, grupo placebo y grupo de MAA respectivamente, $p < 0.001$), a las 12 horas (0.96 ± 0.28 y 0.37 ± 0.19 nmol CRAT / mg proteína, grupo placebo y grupo de MAA respectivamente, $p < 0.001$) y a las 24 horas de trombólisis (0.68 ± 0.22 y 0.28 ± 0.16 nmol CRAT / mg proteína, grupo placebo y grupo de MAA respectivamente, $p < 0.001$). Al ingreso del estudio ambos grupos no mostraron diferencias significativas estadísticamente (0.72 ± 0.19 y 0.94 ± 0.42 nmol CRAT / mg proteína, grupo placebo y grupo de MAA respectivamente, $p = \text{NS}$).

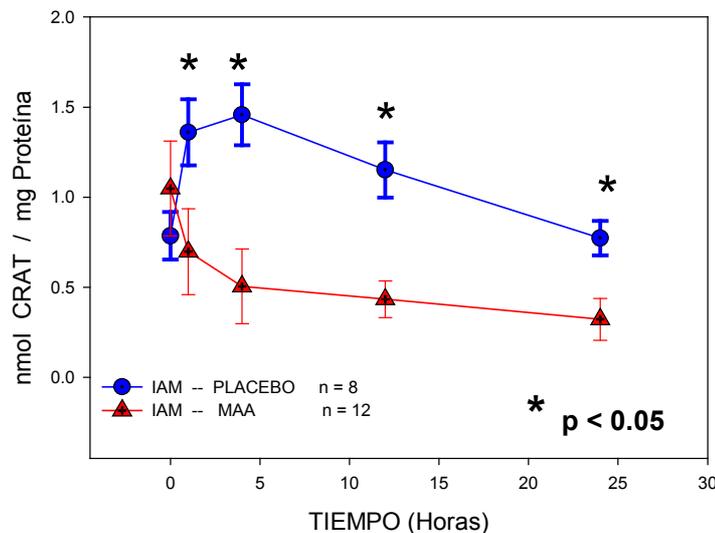


Figura 7. Concentración de compuestos reactivos al ácido tiobarbitúrico (CRAT) en el IAM de **localización postero-inferior**, grupo tratado con mezcla de agentes antioxidantes (MAA) n = 12, grupo placebo n = 8, (promedio ± EE). Prueba de ANOVA seguida de Tukey.

La presencia de IAM de localización postero-inferior es debido a la oclusión principalmente de la arteria coronaria derecha. El comportamiento en la concentración de CRAT en plasma fue semejante al mostrado en la figura 6, es decir; en el grupo placebo se mostró una curva con pico máximo a las 4 horas con disminución a las 24 horas similares a la de su ingreso. En el grupo que recibió la MAA la gráfica mostró una curva cóncava con disminución continua y lenta presentando su pico máximo de decremento a las 24 horas de seguimiento, no regresando a concentraciones basales. En la primera hora de seguimiento (1.35 ± 0.18 y 0.69 ± 0.23 nmol CRAT / mg proteína, grupo placebo y grupo de MAA respectivamente, $p < 0.05$), a la 4 hora de monitoreo (1.45 ± 0.16 y 0.50 ± 0.20 nmol CRAT / mg proteína, grupo placebo y grupo de MAA respectivamente, $p < 0.05$), a las doce horas de trombólisis (1.15 ± 0.15 y 0.43 ± 0.10 nmol CRAT / mg proteína, grupo placebo y grupo de MAA respectivamente, $p < 0.05$) y a la 24 horas de seguimiento (0.77 ± 0.09 y 0.32 ± 0.11 nmol CRAT / mg proteína, grupo placebo y grupo de MAA respectivamente, $p < 0.05$). No se descubrió diferencias significativas estadísticamente en ambos grupos al inicio del estudio (0.78 ± 0.13 y 1.04 ± 0.26 nmol CRAT / mg proteína, grupo placebo y grupo de MAA respectivamente, $p = \text{NS}$) figura 7.

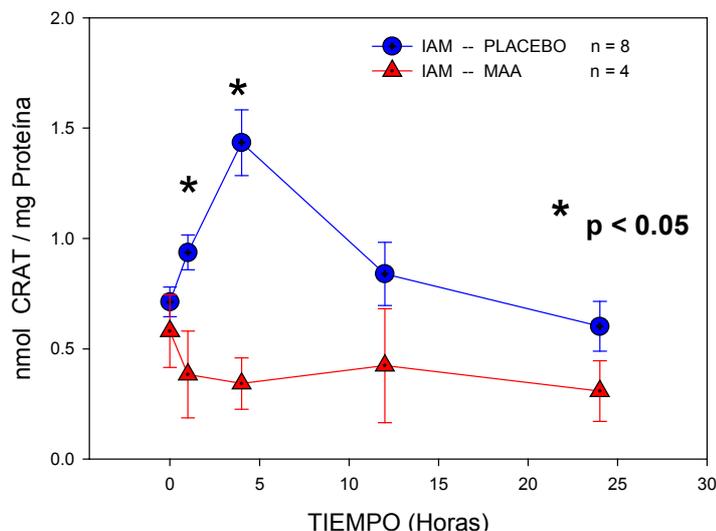


Figura 8. Concentración de compuestos reactivos al ácido tiobarbitúrico (CRAT) en el IAM de **localización anteroseptal**, grupo tratado con mezcla de agentes antioxidantes (MAA) n = 4, grupo placebo n = 8, (promedio ± EE). Prueba de ANOVA seguida de Tukey.

La figura 8 muestra la presencia de IAM de localización anteroseptal, la cual fue debido a la oclusión de la arteria coronaria izquierda con afección en su segmento descendente anterior. Se cuantificó la concentración en plasma de CRAT determinada durante las 24 horas posteriores a su admisión hospitalaria por diagnóstico IAM encontrando a su ingreso del estudio, que ambos grupos presentaron concentraciones de CRAT similares 0.71 ± 0.13 y 0.58 ± 0.16 nmol CRAT / mg proteína, grupo placebo y grupo de MAA respectivamente, $p = \text{NS}$). Solamente registrando diferencias estadísticas en la primera hora de seguimiento (0.71 ± 0.07 y 0.38 ± 0.20 nmol CRAT / mg proteína, grupo placebo y grupo de MAA respectivamente, $p < 0.05$) y en la cuarta hora de trombólisis (0.93 ± 0.08 y 0.34 ± 0.12 nmol CRAT / mg proteína, grupo placebo y grupo de MAA respectivamente, $p < 0.05$). La detección de diferencias solamente en dos tiempos, quizá es debido por el tamaño pequeño de la muestra en el grupo tratado con MAA y posiblemente a que la fase hiperaguda de daño oxidativo se sitúa en las primeras 4 horas de reperfusión y no por el tamaño de miocardio lesionado (isquemia-necrosis), como lo muestran las figuras anteriores.

VI.5. Actividad enzimática de la Paraoxonasa (PON1).

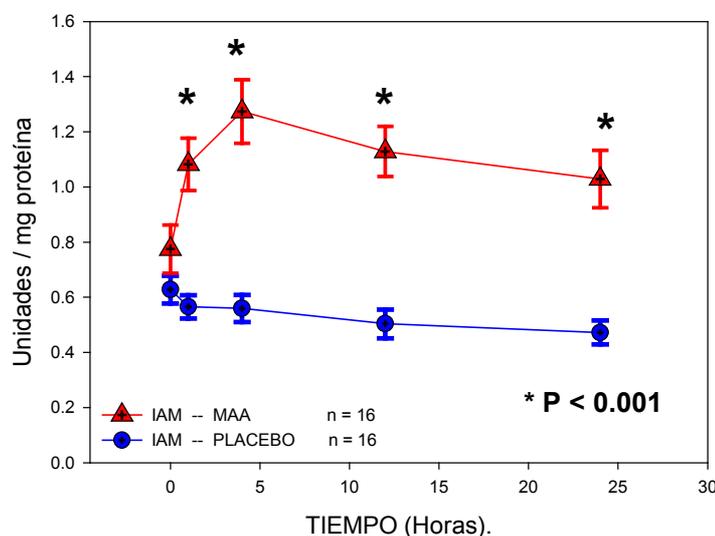


Figura 9.. Actividad enzimática en plasma de paraoxonasa (PON1) en el IAM, mezcla de agentes antioxidantes (MAA), n = 32. Valores expresados en promedio \pm EE Prueba de ANOVA seguida de Tukey.

La figura 9 muestra la actividad de la PON1 en plasma de pacientes con IAM. Al tiempo 0 ó basal (admisión hospitalaria) ambos grupos presentaron actividad enzimática parecidas (0.62 ± 0.05 y 0.77 ± 0.08 Unidades / mg proteína, grupo placebo y grupo MAA, respectivamente; $p = \text{NS}$). Presentando incremento significativo en la actividad en el grupo que recibió la MAA y una discreta reducción en el grupo placebo desde la primera hora y en las subsecuentes mediciones. En el grupo tratado como medida coadyuvante con una mezcla de agentes antioxidantes (MAA) el comportamiento de la actividad fue ascendente con pico máximo a las 4 horas de la intervención experimental (trombólisis y ministración de antioxidantes) y manteniéndose en valores similares al registrado desde la primera hora, no regresando a su basal de origen. Mientras que en el grupo placebo la actividad de la PON1 siempre estuvo en descenso discreto y progresivo, sin recuperar su actividad a valores basales. En la primera hora de seguimiento (0.56 ± 0.04 y 1.08 ± 0.09 Unidades / mg proteína, grupo placebo y grupo de MAA respectivamente, $p < 0.001$), a la cuarta hora de monitoreo (0.55 ± 0.04 y 1.27 ± 0.11 Unidades / mg proteína, grupo placebo y grupo de MAA respectivamente, $p < 0.001$), a la 12 hora de trombólisis (0.50 ± 0.05 y 1.12 ± 0.09 Unidades / mg proteína, grupo placebo y grupo de MAA respectivamente, $p < 0.001$) y a la 24 horas de seguimiento (0.47 ± 0.04 y 1.02 ± 0.10 Unidades / mg proteína, grupo placebo y grupo de MAA respectivamente, $p < 0.001$).

VI.6. Cuenta celular de leucocitos totales en plasma durante el IAM.

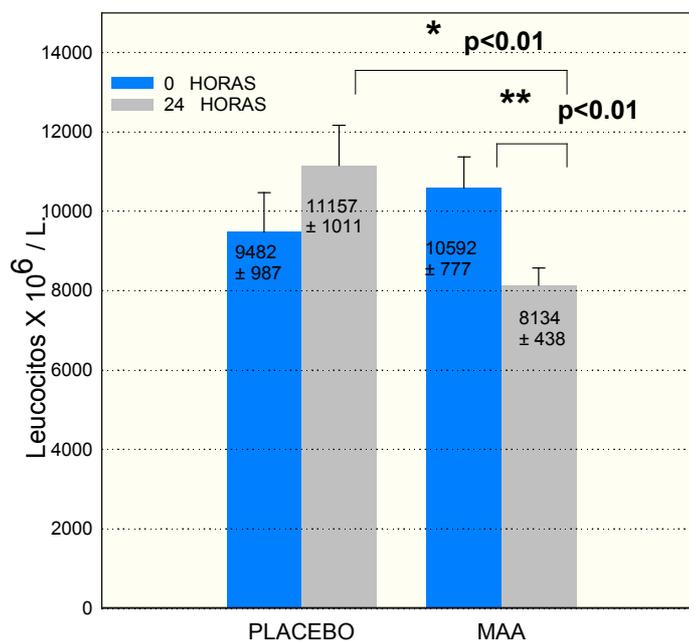


Figura 10. Comparación de la cuenta de células blancas sanguíneas (leucocitos) al tiempo 0 (basal) y a las 24 horas (final) n = 16 por grupo MAA / Placebo, (promedio ± EE) * t - student. ** t - pareada.

En el grupo que recibió una mezcla de agentes antioxidantes (MAA) presentó a su admisión intrahospitalaria un conteo leucocitario (promedio 10592 ± 777) con decremento a las 24 horas (promedio 8134 ± 438) p < 0.01. Mientras que en el grupo placebo el conteo celular se incrementó al tiempo 24 horas en comparación al basal (basal promedio 9482 ± 987, final promedio 11157 ± 1011) p = NS. Detectando diferencias significativas intergrupales al tiempo 24 horas (11157 ± 1011 grupo placebo, 8134 ± 438 grupo MAA, p < 0.001) figura 10.

VI.7. Cuenta celular de neutrófilos en plasma durante el IAM.

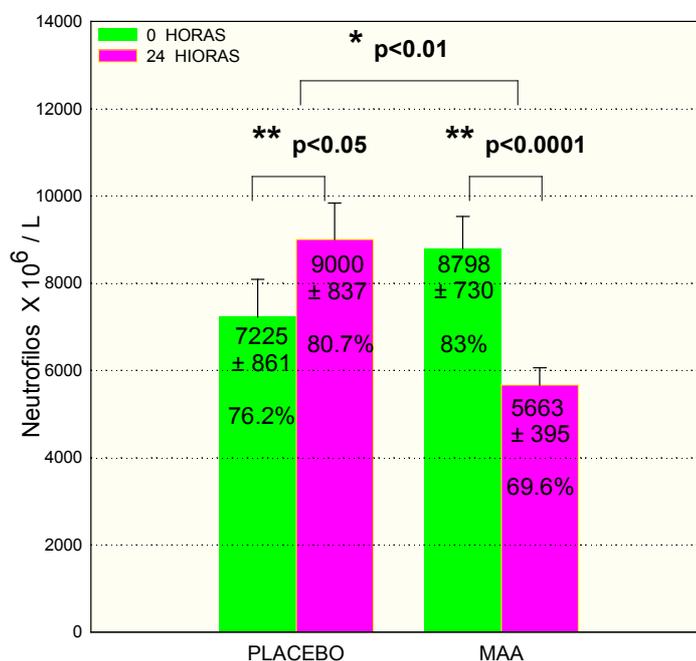


Figura 11. Conteo de neutrófilos y porcentaje con respecto a las células blancas leucocitos, al tiempo 0 h y 24 h entre el grupo de pacientes que recibió una mezcla de agentes antioxidantes (MAA) en comparación con el grupo placebo. n = 16 por grupo (promedio ± EE, % de leucocitos totales) * t - student. ** t - pareada.

Se considero como 100% al promedio de leucocitos totales en ambos grupos como lo muestra la gráfica 8. En los pacientes con infarto agudo del miocardio que fueron tratados con una mezcla de agentes antioxidantes, el conteo porcentual de neutrófilos presento una reducción (0 horas = 83%, 24 horas = 69.6% $p < 0.0001$), en comparación con el grupo placebo hubo un incremento progresivo desde su ingreso hospitalario hasta la hora 24 (0 h = 76.2% 24 h 80.7% $p < 0.05$). Detectando diferencias significativas intergrupales al tiempo 24 horas (9000 ± 837 grupo placebo, 5663 ± 395 grupo MAA, $p < 0.01$) figura 11. Es decir; no solo se inhibió el incremento de los neutrófilos, sino también en el grupo que recibió la MAA se detecto una reducción de los neutrófilos circulantes en sangre.

VI.8. Principales arritmias registradas en el IAM.

Característica	Grupo Placebo. No. Pacientes (%)	Grupo MAA No. Pacientes (%)	P
Complejos Ventriculares Prematuros (CVP).	16 (100)	6 (38)	**p < 0.001
Fibrilación Auricular (FA).	7 (44)	1 (6)	*p < 0.05
Taquicardia Ventricular (TV).	5 (31)	0 (0)	*p < 0.05
Fibrilación Ventricular (FV).	3 (19)	1 (6)	*PNS
Bradicardia Sinusal (BS).	1 (6)	8 (50)	*p < 0.05
Bloqueo CRHH.	3 (19)	4 (25)	*PNS
Bloqueo CRDHH.	5 (31)	2 (13)	*PNS
Bloqueo A-V 1 ^{er} grado.	7 (44)	1 (6)	*p < 0.05
Bloqueo A-V 2 ^{do} grado.	1 (6)	2 (13)	*PNS
Bloqueo A-V 3 ^{er} grado.	2 (13)	1 (6)	*PNS

Tabla 3. Arritmias registradas en las primeras 24 horas del IAM. Bloqueo completo de rama izquierda del haz de his (BCRIHH), Bloqueo completo de rama derecha del haz de his (BCRDHH), Bloqueo aurículo-ventricular (B A-V). *PNS: p no significativo. * Prueba Exacta de Fisher. ** Chi cuadrada.

Parte de la atención médica en el paciente con IAM es el monitoreo electrocardiográfico continuo con la finalidad de detección temprana y manejo oportuno de arritmias pos-reperusión. En el presente estudio se registraron los CVP como la arritmia más frecuente presentada en el grupo placebo (100%) en comparación con grupo tratado con MAA (38%) $p < 0.001$. La fibrilación auricular presentó una incidencia del 6% y 44% en el grupo con MAA y placebo respectivamente ($p < 0.05$). Mientras que la taquicardia ventricular se registró predominantemente en el grupo placebo (31%) en comparación con grupo con MAA (0%) $p < 0.05$. La localización de infarto más frecuente registrada fue el IAM postero-inferior y con ello la arritmia más desarrollada fue la bradicardia sinusal en el grupo tratado con la MAA (50%) y en el grupo placebo (6%) $p < 0.05$. Por otro lado el bloqueo aurículo-ventricular de primer se registró más frecuente en el grupo placebo (44%) en comparación con el grupo MAA (6%) $p < 0.05$. Se registraron también la fibrilación ventricular, bloqueos de rama del haz de His y los bloqueos aurículo-ventriculares de segundo y tercer grado, sin detectarse diferencias significativas, tabla 3. El monitoreo electrocardiográfico se llevó a cabo en el tiempo que duro el estudio (24 horas post-trombólisis) y la incidencia de arritmias se detectó en su mayoría en las primeras 6 horas post-trombólisis.

VII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

El IAM es una enfermedad de aparición súbita y con elevada mortalidad, ante ello el valor de la trombólisis es el restablecer el flujo sanguíneo al tejido isquémico y rescatar una área de miocardio lesionado; mejorando la reducida sobrevivencia en tiempo después de un infarto establecido (GISSI,1986). Sin embargo, existe una paradoja que en muchas circunstancias el daño estructural y el deterioro funcional ocurren tempranamente posterior a la reperfusión (reoxigenación) en el corazón con hipoxia (Guarnieri et al, 1980). Ante la presencia de radicales libres como parte del daño por reperfusión en el miocardio y no poderse medir como tal por su vida media tan corta, se cuantificó el daño que estos producen a través de la concentración de los CRAT en plasma. En nuestros experimentos se detectó en el grupo placebo niveles altos de CRAT desde su ingreso al estudio, así como de un incremento continuo con pico máximo a las 4 horas y retorno a valores basales a las veinticuatro horas de seguimiento: Esto se interpreta como una exitosa reperfusión de la fibrinólisis dentro de la ventana terapéutica de tiempo 230 ± 28.7 minutos (Tabla 2). La evidencia de que los CRAT se encuentran presentes tanto en plasma como en tejido cardíaco posterior a la reperfusión está solidamente fundamentada (Davies,1990). Los CRAT son sustancias resultantes de la interacción del ácido tiobarbitúrico con los carbonilos de los productos de lipoperoxidación producidos por el efecto de las ERO sobre los dobles enlaces de los ácidos grasos existentes principalmente en las membranas celulares (Esterbauer et al,1990).

Existe evidencia del incremento de los CRAT desde la primera hasta la novena hora pos-reperfusión en el IAM, correlacionado con la disfunción contráctil del ventrículo izquierdo (Davies, 1993). Dicho intervalo de tiempo tan amplio quizá sea debido: a) al uso de diferentes métodos de análisis, b) a una fibrinólisis fallida (no reperfusión) con oclusión coronaria permanente y c) el tiempo transcurrido desde el inicio de los signos y síntomas del infarto hasta la trombólisis (Ohlin, 1995; Cottin, 1998; Levy, 1998; Davies, 1993; Kharb, 2000; Arstall, 1995; Giardina, 1993).

Bajo condiciones normales del tres al cinco por ciento del oxígeno ocupado por las células bajo el sistema de reducción lleva a la formación de radicales libres, sin embargo; las concentraciones tisulares de radicales libres están limitadas por un sistema de antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos que se han desarrollado y se han conservado durante la evolución de la vida aeróbica.

En diversos estudios se ha reportado incremento del estrés oxidativo (sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico) y un estado antioxidante deprimido (catalasa, superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa, glutatión, vitamina C, E, carotenos) (Hill et al,1997; Blankenberg et al,2003; Jayakumari et al,1992; Levy et al,1998; Singh et al,1994; Singh et al,1995) teniendo efectos deletéreos sobre la estructura

y función cardiaca (insuficiencia ventricular izquierda y derecha, miocardio aturdido, incremento de arritmias) así como de una correlación en la presentación de angina de pecho con dicho incremento de estrés oxidativo y la reducción del sistema antioxidante.

En nuestro estudio se midió por espectrofotometría la CATP siendo la suma de los antioxidantes presentes en plasma, capaces de inactivar y depurar los radicales libres de oxígeno de diferente origen. Ambos grupos de pacientes ingresaron con una CATP similar, no hallando diferencias significativas: La reducción en la CATP en el grupo control desde la primera hasta las veinticuatro horas posttrombólisis posiblemente sea debido al consumo o utilización sistémica de antioxidantes ante la presencia de RL. En el grupo que recibió la MAA se inhibió la peroxidación de lípidos al detectar niveles bajos en plasma de CRAT además de mantener concentraciones elevadas de CATP desde la primera hora hasta las veinticuatro horas de cobertura del estudio.

Lo innovador del estudio en la administración de la MAA (la cual contenía vitamina C, E, zinc y selenio) en la fase temprana (aguda) del IAM, a dosis menores (recomendación diaria) en comparación con ensayos clínicos en modelos animales o humanos donde utilizaron un solo antioxidante con dosis elevadas y sin cofactores para el buen funcionamiento del sistema enzimático antioxidante ^(Singh et al,1996).

Se sabe que la paraoxonasa-1 (PON1) es una proteína presente en fluidos tisulares, localizada exclusivamente en las lipoproteínas de alta densidad (HDL) con propiedades antioxidantes ^(Mackness, et al,1981) al funcionar como protector de las membranas celulares contra la peroxidación de lípidos. El posible mecanismo por el cual la subfracción de la HDL (PON1) disminuye la acumulación de lipoperóxidos es a través de la hidrólisis enzimática de los hidroperóxidos de fosfolípidos ^(Mackness et al,1993). Los lípidos de la LDL más susceptibles a la oxidación son los fosfolípidos poli-insaturados como la fosfatidilcolina, un ácido graso con un grupo acyl en la posición Sn2. En la LDL humana, este grupo tiende a ser el linoleico. El sitio más susceptible de substracción del hidrógeno y peroxidación por los radicales libres de oxígeno posiblemente se encuentre en el doble enlace situado en el carbono 9 en la cadena del hidrocarburo del grupo linoleico. La HDL probablemente cataliza la hidrólisis del hidroperóxido en este sitio ^(Durrington et al, 2001).

Desafortunadamente existe escasa información de la actividad enzimática de la PON1 durante el IAM. La actividad de hidrólisis de PON1 en el suero humano durante el infarto del miocardio ha sido reportada con distribución bimodal ^(McElveen et al, 1986) relacionado con la teoría de que la actividad de la PON1 esta determinada por polimorfismo ^(Humbert et al,1993; Mackness et al,1997). En

el presente estudio se confirmó una baja actividad de la PON1 en suero en el grupo placebo manteniéndose por debajo a los valores basales de ingreso hospitalario (Ayub et al, 1999; McElveen et al, 1986). Esto sugiere que durante el IAM existe una reducción en la actividad de la PON1 en suero. A pesar de que ambos grupos ingresaron con diferentes valores de actividad de PON1 pero sin detectarse diferencias significativas estadísticamente, desconocemos si la baja actividad de la PON1 en suero, fue la que precedió al infarto del miocardio.

No se detectó una distribución bimodal como en otros estudios donde el seguimiento se extendió por varios días y en el presente estudio el monitoreo fue de 24 horas una vez realizada la trombólisis. En el grupo que recibió la MAA se mostró un incremento en suero de la actividad de PON1 desde la primera hora de la intervención terapéutica con pico máximo a las 4 horas manteniéndose constantes y por arriba de su basal, desconocemos si dicho hallazgo fue por efecto de la MAA o una respuesta secundaria sobre las HDL; en realidad se desconoce el mecanismo. Posiblemente los antioxidantes jueguen un papel esencial al inhibir la oxidación de las lipoproteínas tanto la LDL como la HDL y la misma PON1; con ello, bloquear la cascada de lesión en la placa ateromatosa como es: a) daño vascular caracterizado por permeabilidad endotelial, lesión del músculo liso a través de necrosis central de la placa, estimulación de la formación de células espumosas a través de un incremento en la captación de LDL oxidadas y favoreciendo la acumulación con retención de macrófagos periféricos en la placa ateromatosa. (Quinn et al, 1987).

En base a los hallazgos anteriores se puede sugerir que la determinación de la actividad de la PON1 puede ser útil como biomarcador de pronóstico del síndrome coronario agudo y quizá como factor de riesgo para desarrollo de IAM.

Las alteraciones del ritmo cardíaco (arritmias) son consecuencia de la reperfusión durante la isquemia del corazón, denominadas complicaciones eléctricas. Estas arritmias acontecen al reestablecer el flujo arterial coronario en situaciones como; espasmo coronario (angina), cirugía cardiopulmonar –bypass con isquemia secundario a paro cardíaco- y procedimientos diagnóstico-terapéuticos como lo es al angioplastia y la trombólisis (Corr,1983). La incidencia de arritmias en la fase aguda del IAM en estudios multicéntricos reportó la presencia de menos de un latido ventricular prematuro por hora (< 1 LVP / h) en el 36% de la población y aproximadamente el 20% con > 10 LVP / h (Maggioni,1993). Las bases de datos de los estudios GISSI-3 y GUSTO III reportan una incidencia de taquicardia ventricular (TV) 0.9 – 3.5%, fibrilación ventricular (FV) 1 – 2.7%, ambas (TV y FV) 1.3%, fibrilación auricular y flutter auricular (FA, FF) 6 – 6.5%, asistolia 1%, bloqueo aurículo-ventricular segundo grado (B A-V 2° G) 2% y

bloqueo aurículo-ventricular de tercer grado (B A-V3^{er} G) durante las primeras 48 horas del IAM y se asoció con una tasa de mortalidad alta a los treinta días y un año de acontecido el infarto (Volpi,2001. Cheuk,2000. Khatib,2003)

Dentro de las causas desencadenantes que contribuyen en la génesis de las arritmias por reperfusión están la producción de sustancias químicas endógenas en el tejido isquémico (miocito cardiaco, plaquetas, leucocitos y endotelio) o posterior a la reperfusión y que estas modulen las arritmias (Curtis,1993). En la arritmogénesis de reperfusión se ha postulado desde alteraciones en las corrientes iónicas transmembrana hasta desconexiones de célula-célula (Corr,1983), disminución intracelular de los niveles energéticos de fosfato (Manning,1984), alteraciones en los gradientes iónicos incluyendo cambios en el contenido de K⁺ extracelular e incremento en las concentraciones intracelulares de H⁺, Ca⁺⁺, Na⁺ (Tzivoni,1983), estimulación del sistema catecolamino-simpático e incremento intracelular del AMP-cíclico (Corr,1983. Curtis,1993).

En nuestro estudio las arritmias más frecuentes fueron los complejos ventriculares prematuros (CVP), taquicardia ventriculares (TV) y fibrilación ventricular (FV) en el grupo placebo. La posible explicación de la frecuencia de arritmias sea; a) la presencia de estrés oxidativo durante la reperfusión (Kusama,1990), el cual favorece a un enlentecimiento del potencial de acción, incremento de arritmias, prolongación de la disfunción contráctil, disminución de la presión de perfusión coronaria y no reducción del tamaño de necrosis (Nejima et al,1989; Aiello et al,1995) y b) los CVP y las taquiarritmias son debido a que la capacidad arritmogénica de la reperfusión es máxima después de períodos de isquemia de 20-30 minutos y disminuye cuando el tiempo de oclusión coronaria es mayor de los 60 minutos (Cinca et al,1992), cuando la isquemia se prolonga (> 3 horas) el efecto de reperfusión brusca se traduce en un aumento del número de CVP (Yamazaki et al,1986)

Mientras que en el grupo tratado con la MAA predominó la bradicardia sinusal (BS), en tanto los CVP se presentaron con menor frecuencia, mientras que la TV y FV estuvieron ausentes. La presencia de BS posiblemente sea debido a que es la arritmia que se presenta con mayor frecuencia en los infartos del miocardio de localización postero-inferior e inferior y en nuestro estudio fue la zona de lesión más registrada: Posiblemente que al reducir el estrés oxidativo por medio de la MAA favorece una disminución en la arritmogénesis después de la reperfusión como lo demuestra la reducción en la incidencia de arritmias de TV, FV, CVP y de una pronta recuperación al ritmo sinusal en nuestro estudio. Este beneficio se ha confirmado en diversos estudios donde se emplearon varios antioxidantes (SOD, catalasa, glutatión, manitol, nitroprusiato de sodio, metionina, desferoxamina) diferentes a los empleados en el presente ensayo clínico (Nejima et al,1989; Aiello et al,1995; Bernier et al,1986; Murohara et al,1991)

Se ha demostrado que el proceso inflamatorio es un factor de riesgo para el desarrollo de eventos cardiovasculares (Ross,1999. Ridker,1997). Los pacientes con un elevado conteo de leucocitos tienen un alto riesgo a desarrollar IAM (Yarnell,1991. Ernest,1987. Lowe,1985) y a presentar eventos adversos (reducción del flujo sanguíneo en epicardio y miocardio, reducción en la tromboresistencia, así como un incremento en la incidencia de insuficiencia cardiaca con muerte súbita) durante la fase aguda del infarto (Furman,1996. Barron,20009).

Los posibles mecanismos que los leucocitos pueden contribuir a lesión microvascular durante la isquemia-reperfusión son; a) obstrucción de los microvasos por los leucocitos dependiente de presión, b) anomalías reológicas de los leucocitos y c) daño endotelial causado por los leucocitos (Hoffman,2004). En los últimos años se ha postulado el estado de hipercoagulabilidad mediado por leucocitos (Ott,1998), el fenómeno de no reflujo (Engler,1983) y lesión miocárdica mediada por citosinas (Mann,1994) como factores que contribuyen al daño por perfusión en los síndromes coronarios agudos. En relación a esta última hipótesis, varios artículos han documentado la presencia de citosinas como parte de la respuesta inflamatoria durante el IAM. Tan es así, que existe un incremento en la expresión de interleucinas (IL) en los leucocitos como la IL-1 β y la IL-8 (Marx,1997), estas últimas han demostrado que incrementa la expresión del factor tisular (FT) sobre la superficie de los monocitos y al unirse al factor VIIa inicia la cascada de la coagulación por la vía extrínseca, con el desarrollo del trombo coronario (Neuman,1997). Así mismo se ha vinculado una correlación positiva de la IL-8 y la proteína quimiotáctica del monocito -1 (MCP-1) con el incremento en la lipoperoxidación (8-isoprostano) y una correlación negativa de la IL-8, MCP-1 y el estado antioxidante (vitamina-E), sugiriendo una interacción entre las citosinas y el estrés oxidativo (Aukrust,2001).

En nuestro estudio se cuantificaron los leucocitos totales y de estos el porcentaje de neutrófilos en sangre central (aurícula derecha) por medio del sistema Cell-Dyn 3700 el cual realizó recuento óptico de leucocitos (WOC) y recuento de leucocitos por impedancia (WIC) en dos tiempos, a su ingreso hospitalario (0 horas) y al final del estudio (24 horas pos-trombólisis). En el grupo control se observó un conteo alto de leucocitos / neutrófilos y un incremento paulatino hasta el final del estudio, detectándose una diferencia significativa solamente en la línea celular de neutrófilos; mientras que en el grupo tratado con una mezcla de agentes antioxidantes de forma similar a su ingreso hospitalario se observó un conteo de leucocitos / neutrófilos alto, ligeramente por arriba de lo reportado en la literatura mundial presentando una reducción significativa al final del estudio: Es decir, con la administración de la MAA no solo se bloqueó la activación de los leucocitos sino también se redujo la leucocitosis existente en las primeras veinticuatro horas del infarto. Dichos resultados confirman la presencia del proceso

inflamatorio agudo en la enfermedad coronaria cardiaca y son similares a los reportados por Chan y colaboradores ⁽¹⁹⁹⁸⁾, en ambos trabajos se administró una mezcla (suplemento) de agentes antioxidantes resultando ser cardioprotector durante la fase de isquemia-reperusión en el IAM, al atenuar de forma directa o indirecta la producción de radicales libres por la línea celular de leucocitos / neutrófilos y secundariamente inhibir la peroxidación de lípidos. Dichos hallazgos sugerimos que sean utilizados como posibles biomarcadores de gravedad y pronóstico de la enfermedad.

La ventaja del estudio, es que la mezcla de agentes antioxidantes utilizada fue inocua, accesible al personal de salud y público, la posología fue cómoda, no se detectaron efectos adversos en los pacientes expuestos y es económica; en comparación con estudios internacionales en donde para conseguir el efecto cardioprotector deseado (atrapador de RL o inhibidor de la producción de especies reactivas de oxígeno por los neutrófilos) se utilizaron el ácido 2-octadecilascorbico ^(Kuzuya,1989), azapropazone ^(Knabb,1991), filtros de leucocitos ^(Juneau,1993), anticuerpos monoclonales ^(Simpson,1990. Ma,1991. Ma,1992. Ma,1993), factor -B1^(Lefer,1990), entre otros: De los cuales se utilizaron *in vivo* en modelos animales, fueron costosos, de uso no común en la terapéutica en humanos, fueron invasivos y con potenciales efectos adversos.

VIII. CONCLUSIONES.

En las primeras 24 horas del infarto agudo del miocardio se incrementó la capacidad antioxidante total así como la actividad de la paraoxonasa (PON1) y se redujo la concentración de compuestos reactivos al ácido tiobarbitúrico (CRAT) en plasma, así mismo; se detectó una reducción en el conteo de células blancas sanguíneas (leucocitos / neutrófilos) y en la incidencia de arritmias en aquellos individuos con trombólisis que recibieron una mezcla de agentes antioxidantes con respecto al grupo placebo.

IX. REFERENCIAS.

- Abbott CA, Mackness MI, Kumar S, Boulton AJ, Durrington PN. Serum paraoxonase activity, concentración and phenotype distribution in diabetes mellitus and its relationship to serum lipids and lipoproteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15:1812-1818.
- Aebi HE. Catalase, In: *Methods of Enzymatic Analysis*. Weinheim: Verlag Chemie, 1982.
- Aiello E, Abr RI, Cole WC. Arrhythmia and Delayed Recovery of Cardiac Potential During Reperfusion After Ischemia. *Circ Res* 1995;77:153-162.
- Ambrosio G, Tritto I. Clinical manifestation of myocardial stunning. *Coronary Artery Dis* 2001;12:357-361.
- Arstall M, Yang J, Stafford I, Betts H, Horowitz J. N-Acetylcysteine in combination with nitroglycerin and streptokinase for the treatment of evolving acute myocardial infarction. Safety and Biochemical Effects. *Circulation* 1995;92:2855-2862.
- Aukrust P, Berge RK, Ueland T, Aaser E, Damas JK, Wikeby L, Brunsvig A, Muller F, Forfang K, Froland SS, Gullestad L. Interaction between chemokines and oxidative stress: Possible pathogenic role in acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol* 2001;37:485-491.
- Ayub A, Mackness M, Arrol S, Mackness B, Patel J, Durrington P. Serum paraoxonase after myocardial infarction. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology* 1999;19(2):330-335.
- Bannister JV, Rotilio G. Aspects of the structure, function, and applications of superoxide dismutase. *CRC Crit Rev Biochem* 1987;22:111-180.
- Barron HV, Cannon CP, Murphy SA, Braunwald E, Gibson CM. Association between white blood cell count, epicardial blood flow, myocardial perfusion and clinical outcomes in the setting of acute myocardial infarction. *Circulation* 2000;102:2329-2334.
- Bernier M, Hearse DJ, Manning AS. Reperfusion-induced Arrhythmias and Oxygen-derived Free Radicals. *Circ Res* 1986;58:331-340.
- Bertschat F, Ising H, Gunther T, Jeremias A, Jeremias E. Changes of ionized magnesium and free fatty acids in serum after acute myocardial infarction. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1995;33(9):553-558.
- Bestervelt LL, Vaz AND, Coon MJ. Inactivation of ethanol-inducible cytochrome P450 and other microsomal P450 isoenzymes by trans-4-hydroxy-2-nonenal, a major product of membrane lipid peroxidation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:3764-3768.
- Blankenberg S, Rupprecht HJ, Bickel C, Torzewski M, Hafner G, Tiret L, Smieja M, Cambien F, Meyer J, Lackner KJ. Glutathione peroxidase 1 activity and cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 2003; 349:1605-1613.

Braunwald E, Kloner RA: Myocardial reperfusion: A double edged sword? *J Clin Invest* 1985;76:1713-1719.

Bray TM, Bettger WJ. The physiological role of zinc as and antioxidant. *Free Radic Biol Med* 1990;8:281-291.

Brigelius-Flohé R, Aumann KD, Blocker H, Gross G, Kiess M, Kloppel KD, Maiorino M, Roveri A, Schuckelt R, Ursini F, Wingender E, Flohé L. Phospholipid-hydroperoxide glutathione peroxidase. Genomic DNA, cDNA and deduced amino acid sequence. *J Biol Chem* 1994;269:7342-7348.

Bunk MJ, Dnistrian AM, Schwartz MK, Rivlin RS. Dietary zinc deficiency decreases plasma concentrations of vitamin E. *Proc. Soc. Exp. Biol Med* 1989;190:379-384.

Burk RF. Molecular biology of selenium with implications for its metabolism. *FASEB J* 1991;5:2274-2279.

Chamiec T, Herbaczynska C, Ceremuzynski L. Effects of antioxidant vitamins C and E on signal averaged electrocardiogram in acute myocardial infarction. *Am J Cardiol.* 1996;77(4):237-241.

Chan SS, Monteiro HP, Deucher GP, Abud, RL, Abuchalla D, Junqueira VB. Functional activity of blood polymorphonuclear leukocytes as on oxidative stress biomarker in human subjects. *Free Radical Biol Med* 1998;24:1411-1418.

Cheuk KW, White HD, Wilcox RG, Criger DA, Califf RM, Topol EJ, Ohman EM, for the GUSTO-III Investigators Auckland, New Zealand, Hong Kong, Nottingham, Durham, NC and Cleveland, Ohio. New atrial fibrillation after acute myocardial infarction independently predicts death: The GUSTO-III experience. *Am. Heart J* 2000;140:878-885.

Chu FF, Doroshov JH, Esworthy RS. Expression, characterization, and tissue distribution of a new cellular selenium-dependent glutathione peroxidase, GSHPx-GI. *J Biol Chem* 1993;268:2571-2576.

Cinca J, Worner F, Carreño A, Bardají A, Salas-Caudevilla A, Soler-Soler J. Reperfusion arrhythmias after chronic regional denervation of the ischaemic myocardium in pigs. *Cardiovasc Res* 1992;26:962-967.

Coolen AJ, Wijnen WA, Reijnga HL, Vader HL, Roumen MH, Huf FA. A new method for measuring oxidative stress in claudicants during strenuous exercise using free radical derivatives of antipyrine as indicators: a pilot study. *Annals of Clinical Laboratory Science* 2002;32:181-187.

Corr PB, Witkowski FX. Potential electrophysiologic mechanisms responsible for dysrhythmias associated with reperfusion of ischemic myocardium. *Circulation* 1983;68(suppl I): I16 – I24.

Cottin Y, Doise JM, Maupoil V, Tanniere ZM, Dalloz F, Maynadie M, Walker MK, Louis P, Carll PM, Wolf JE, Rochette L. *Fundam Clin Pharmacol* 1998; 12(2):236-241.

Cousins RJ. Absorption, transport and hepatic metabolism of copper and zinc: special reference to metallothionein and ceruloplasmin. *Phys Rev* 1985;65:238-309.

Curtis MJ, Pugsley MK, Walker MJA. Endogenous chemical mediators of ventricular arrhythmias in ischemic heart disease. *Cardiovasc Res* 1993;27:703-719.

Davies CD, Klevay LM, Milne DB, Nielsen FH. Extracellular superoxide dismutase activity: a promising indicator of zinc status in humans. *FASEB J* 1998;12:A346.

Davies KJA, Delsignore ME, and Lin SW. Protein damage and degradation by oxygen radicals. I. General aspects. *J Biol Chem* 1987;262:9895-9901.

Davies KJA, Delsignore ME, and Lin SW. Protein damage and degradation by oxygen radicals. II. Modification of amino acids. *J Biol Chem* 1987;262: 9902-9907.

Davies KJA, Lin SW, and Pacifici RE. Protein damage and degradation by oxygen radicals. IV. Degradation of denatured protein. *J Biol Chem* 1987;262: 9914-9920.

Davies SW, Ranjadayalan K, Wickens DG, Dormandy TL, Timis AD. Lipid peroxidation associated with successful thrombolysis. *Lancet* 1990; 335: 741-743.

Davies SW, Ranjadayalan K, Wickens DG, Dormandy TL, Umachandran V, Timis AD. Free radical activity and left ventricular function after thrombolysis for acute infarction. *Br Heart J* 1993; 69:114-120.

Demirag K, Askar FZ, Uyar M, Cevik A, Ozmen D, Mutaf I, Bayindir O. The protective effects of high dose ascorbic acid and diltiazem on myocardial ischaemia-reperfusion injury. *MEJ Anesthesiol* 2001;16:67-79.

Durrington PN, Mackness B, Mackness MI. Paraoxonase and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21:473-480.

EMERAS. Estudio Multicentrico Estreptoquinasa Repúblicas de América del Sur Collaborative Group. Randomized trial of late thrombolysis in patients with suspected acute myocardial infarction. *Lancet* 1993;342:767-772.

Engler RL, Schmid-Schonbein GW, Paveec RS. Leukocyte capillary plugging in myocardial ischemia and reperfusion in the dog. *Am J Pathol* 1983;111:98-111.

Ernst E, Hammerschmidt DE, Bagge U, Matrai A, Dormandy JA. Leucocytes and the risk of ischemic disease. *JAMA* 1987;257:2318-2324.

Esterbauer H, Schaur R, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radical Biology* 1990;11:81-128.

Fantone JC, Watrd PA: Role of oxigen-derived free radicals and metabolitos in leukocyte-dependet inflamatory reactions. *Am J Pathol* 1982;107:397-418.

Ferrari R, Alfieri O, Curello S, Ceconi C, Cargnoni A, Marzollo P, Pardini A, Caradonna E, Visioli O. Occurrence of Oxidative Stress During Reperfusion of the Human Heart. *Circulation* 1990;81:201-211.

Ferretti G, Bacchetti T, Marchionni C, Caldarelli L, Curatola G. Effect of glycation of high density lipoproteins on their physicochemical properties and on paraoxonase activity. *Acta Diabetol* 2001;38(4):163-169.

Fraga CG, Shigenaga MK, Park JW, Degan P, Ames B. Oxidative damage to DNA during aging: 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in rat organ DNA and urine. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:4533-4537.

Frei B. On the role of vitamin C and other antioxidants in atherogenesis and vascular dysfunction. *PSEBM*. 1999; 222: 196-204.

Furman MI, Becker RC, Yarzebski J, Savegeau J, Gore JM, Goldberg RJ. Effect of elevated leucocyte count on in-hospital mortality following acute myocardial infarction. *Am. J Cardiol* 1996;78:945-948.

García-Dorado D. La era de la reperfusión miocárdica. *Rev Esp Cardiol* 1992;45(2):1-8.

Giardina B, Penco M, Lazzarino G, Romano S, Tavazzi B, Fedele F, Pierro DD, Dagianti A. Effectiveness of thrombolysis is associated with a time dependent increase of MDA in peripheral blood of patients with acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1993;71:788-793.

GISSI. Effectiveness of intravenous thrombolytic treatment in acute myocardial infarction. *Lancet* 1986;i:397-402

Granger DN. Ischemia-reperfusion: mechanisms of microvascular dysfunction and the influence of risk factor for cardiovascular disease. *Microcirculation* 1999;6:167-178.

Guarnieri C, Flamigini F, Caldarera CM. Role oxygen in the cellular damage induced by reoxygenation of hypoxic heart. *J Mol Cell Cardiol* 1980;12:797-808.

Haber F, Weiss J. The catalytic decomposition of hydrogen peroxide by iron salts. *Proc. R. Soc* 1934;147:322-351.

Herbaczynska K, Kosiewicz B, Cedro K, Wasek W, Panczenko B, Wartanowicz M. Supplementation with vitamins C and E suppresses leukocyte oxygen free radical production in patients with myocardial infarction. *Eur Heart J* 1995;16:1044-1049.

Hicks J, Medina R. Inhibitory capacity of human serum on induced microsomal lipoperoxidation. *Archives of Medical Research*. 1995; 26 (2):169-172.

Hicks J. *Bioquímica*. 2001. México: Mc Graw-Hill Interamericana, pp 900.

Ho Y, Howard A, Crapo J. Molecular structure of a functional rat gene for manganese-containing superoxide dismutase. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1991;4:278-286.

Hoffman M, Blum A, Baruch R, Kaplan E, Benjamin M. Leukocytes and coronary heart disease. *Atherosclerosis* 2004;172(1):1-7.

Hill KE, Lyons PR, Burk RF. Differential regulation of rat liver selenoprotein mRNAs in selenium deficiency. *Biochem Biophys Res Commun* 1992;185:260-263

Hill MF, Singal PK. Right and left myocardial antioxidant responses during Herat failure subsequent to myocardial infarction. *Circulation* 1997;96:2414-2420

Humbert R, Adler DA, Disteché CM, et al. The molecular basis of the human serum paraoxonase activity polymorphism. *Nature Genet.* 1993;3:73-76.

Iseri LT. Magnesium in coronary artery disease. *Drugs* 1984;28(Supl 1):151-160.

Jacob RA, Burri BJ. Oxidative damage and defense. *Am J Clin Nutr* 1996;63:985s-990s.

Jarvik GP, Tsai NT, McKinstry LA, Wani R, Brophy VH, Richter RJ, Schellenberg JD, Heagerty PJ, Hatsukami TS, Furlong CE. Vitamin C and E Intake Is Associated With Increased Paraoxonase Activity. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology.* 2002;22:1329-1333.

Jayakumari N, Ambikakumari KG, Balakrishnan KG, Iyer KS. Antioxidant status in relation to free radical production during stable and unstable anginal síndromes. *Atherosclerosis* 1992;94:183-190.

Juneau CF, Ito BR, Del Bazo U, Engler RL. Severe neutrophil depletion by leucocyte filters or cytotoxic drug does not improve recovery of contractile function in stunned porcine myocardium. *Cardiovasc Res* 1993;27(5):720-727.

Karmazyn M, Dhalla NS: Physiological and pathophysiological aspects of cardiac prostaglandin. *Can J. Physiol Pharmacol* 1983;61:1207-1218.

Kharb S, Singh V, Ghalaut PS, Singh GP. Oxidative stress after acute myocardial infarction: effect of thrombolytic treatment. *J Assoc Physicians India* 2000; 48(6): 578-580.

Khatib SM, Stebbins AL, Califf RM, Lee KL, Granger CB, White HD, Armstrong PW, Topol EJ, Ohman EM, Durham, NC, Auckland, New Zwaland, Edmonton, Alberta, Canada and Cleveland, Ohio. Sustained ventricular arrhythmias and mortality among patients with acute myocardial infarction: Results from the GUSTO-III trial. *Am Heart J* 2003;145:515-521

Kleinman R. Earlier diagnosis and treatment of acute myocardial infarction necessitates the need for a "new diagnostic mind-set". *Circulation* 1994;89:872-881.

Kloner RA, Arimie RB, Kay GL, Cannom D, Matthews R, Bhandari A, Shook T, Pollick C, and Burstein S. Evidence for stunned myocardium in humans: a 2001 update. *Coron Artery Dis.* 2001;12:349-356.

Kloner RA, Jennings RD. Consecuenses of brief ischemia: stunning preconditioning and their clinical implications: Part 1. *Circulation* 2001;104:2981-2989.

Knabb RM, Rasbach DE, Leamy AW. Persistent cardioprotection by azapropazone in canine model of coronary artery thrombosis and thrombolysis. *J Cardiovasc Pharmacol* 1991;13(3):390-396.

Kusama Y, Bernier M, Hearse DJ. Exacerbation of Reperfusion Arrhythmias by Sudden Oxidant Stress. *Circ Res* 1990;67:481-489.

Kuzuya T, Hoshida S, Nishida M, Kim Y, Fuji H, Kitabatake A, Kamada T, Tada M. Role of free radicals and neutrophils in canine myocardial reperfusion injury: myocardial salvage by a novel free radical scavenger, 2-Octadecylascorbic acid. *Cardiovasc Res* 1989;23(4):323-330.

Lefer AM, Tsao P, Aoki N, Palladino Jr MA. Mediation of cardioprotection by transforming growth factor-beta. *Science* 1990;249(4964):61-64.

Lelli JL, Becks LL, Dabrowska MI, Hinshaw DB. ATP converts necrosis to apoptosis in oxidant-injured endothelial cells. *Free Rad Biol Med* 1998;25:694-698.

Levy Y, Bartha P, Ben-Amotz A, Book JG, Dankner G. Plasma antioxidants and lipid peroxidation in acute myocardial infarction and thrombolysis. *J of the Am Coll of Nutrition* 1998; 17(4):337-341.

Lowe GD, Machado SG, Krol WF, Barton BA, Forbes CD. White blood cell count and haematocrit as predictor of coronary recurrence after myocardial infarction. *Thromb Haemost* 1985;54:700-703.

Ma XL, Lefer DJ, Lefer AM, Rothlein R. Coronary endothelial and cardiac protective effects of a monoclonal antibody to intercellular adhesion molecule-1 in myocardial ischemia and reperfusion. *Circulation* 1992;86:937-946.

Ma XL, Tsao PS, Lefer AM. Antibody to CD-18 exerts endothelial and cardiac protective effects in myocardial ischemia and reperfusion. *J Clin Invest* 1991;88(4):1237-1243.

Ma XL, Weyrich AS, Lefer DJ, Buerke M, Albertine KH, Kishimoto TK, Lefer M. Monoclonal antibody to L-selectin attenuates neutrophil accumulation and protects ischemic reperfused cat myocardium. *Circulation* 1993;88:649-658.

Mackness B, Mackness MI, Arrol S, Turkie W, Durrington PN. Effect of the molecular polymorphisms of the human paraoxonase (PON1) on the rate of hydrolysis of paraoxon. *Br J Pharmacol*. 1997;122:265-268.

Mackness MI, Mackness B, Durrington PN, Connelly PW, Hegele RA. Paraoxonase: biochemistry, genetics and relationship to plasma lipoproteins. *Curr Opin Lipidol* 1996;7:69-76.

Mackness MI, Abbott CA, Arrol S, Durrington PN. The role of the high density lipoprotein and lipid-soluble antioxidant vitamins in inhibiting low-density lipoprotein oxidation. *Biochem J*. 1993;294:829-835.

Mackness MI, Walker CH. "A"-esterase activity in the lipoprotein fraction of sheep serum. *Biochem Pharmacol* 1981;30:903-906.

Maddipati KR, Marnett LJ. Characterization of the major hydroperoxide-reducing activity of human plasma. *J Biol Chem* 1987;262:17398-17403.

Maggioni AP; Zuanetti G, Fanzosi MG, Rovelli F, Santoro E, Staszewsky L, Tavazzi L, Tognoni G, on behalf of GISSI-2 Investigators. Prevalence and prognostic Significance of Ventricular Arrhythmias After Acute Myocardial Infarction in the Fibrinolytic Era GISSI-2 Results. *Circulation* 1993;87:312-322.

Mahan LK, Stump SE. *Nutrición y Dietoterapia*. 9^a Ed. México: Editorial McGraw-Hill Interamericana, 1998:77-143.

Mann DL, Young JB. Basic mechanisms in congestive Heart failure: recognizing the role of proinflammatory cytokines. *Chest* 1994;105:897-904.

Manning AS, Hearse DJ. Reperfusion-induced arrhythmias: mechanisms and prevention. *J Mol Cell Cardiol* 1984;16:497-518.

Marklund SL, Holme E, Hellner L. Superoxide dismutase in extracellular fluids. *Clin Chem Acta* 1982;126:41-51.

Marx N, Neumann FJ, Ott I, Gawaz M, Koch W, Pinkau T, Schomig A. Induction of cytokine expression in leukocytes in acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 1997;30:165-170.

McElveen J, Mackness M, Colley CM, Peard T, Warner S, Walker CH. Distribution of paraoxon hydrolytic in the serum of patients after myocardial infarction. *Clin Chem*. 1986;32(4):671-673.

Mehta J, Li D, Metha J. Vitamins C and E prolong time to arterial thrombosis in rats. *J. Nutr* 1999;129:109-112.

Muhammad H, Mahrous Z. Oxidative stress in the context of acute cerebrovascular stroke. *Stroke* 2000;31:1889-1892.

Murohara Y, Yui Y, Hattori R, Kawai C. Effects of Superoxide Dismutase on Reperfusion Arrhythmias and Left Ventricular Function in Patients Undergoing Thrombolysis for Anterior Wall Acute Myocardial Infarction. *Am J Cardiol* 1991;67:765-767.

Nakashima H, Yamamoto M, Goto K, Osumi T, Hashimoto T, Endo H. Isolation and characterization of the rat catalase-encoding gene. *Gene* 1989;79:279-288.

Nejima J, Knight DR, Fallon JT, Uemura N, Manders T, Canfield DR, Cohen MV, Vatner SF. Superoxide Dismutase Reduces Reperfusion Arrhythmias but Fails to Salvage Regional Function or Myocardium at Risk in Conscious Dogs. *Circulation* 1989;79:143-153.

Neumann FJ, Ott I, Marx N, Luther T, Kenngott S, Gawaz M, Kotzsch M, Schömig A. Effect of human recombinant interleukin-6 and interleukin-8 on monocyte procoagulant activity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:3399-3405.

Ohlin H, Gustavsson CG, Pantev E, Thorvinger B, Ohlin AK. Transient release of lipid peroxidation products as a non-invasive marker of successful reperfusion after thrombolysis for myocardial infarction. *Br Heart J* 1995;73 (3):223-226.

Ortega-Camarillo C, Guzmán-Grenfell AM, Hicks JJ. Oxidation of Gonadotrophin (PMSG) by Oxygen Free Radicals Alters Its Structure and Hormonal Activity. *Mol. Reprod. Dev* 1999;52:264-268.

Ott I, Neumann FJ, Kenngott S, Gawaz M, Schomig A. Procoagulant inflammatory responses of monocytes after direct balloon angioplasty in acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1998;82:938-942.

Rayman MP. The importance of selenium to human health. *Lancet* 2000;356:233-241.

Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. Inflammation, aspirin and risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med* 1997;336:973-979.

Riemersma RA, Wood DA, Macintyre CCA, Elton RA, Gey KF, Oliver MF. Risk of angina pectoris and plasma concentrations of vitamins A, C, and E and carotene. *Lancet* 1991;337:1-5.

Rimm EB, Stampfer MJ, Ascherio A, Giovannucci E, Colditz GA, Willett WC. Vitamin E consumption and the risk of coronary heart disease in men. *N Engl J Med* 1993;328:1450-1456.

Ross R. Atherosclerosis- an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340:115-126.

Roveri A, Casasco A, Maiorino M, Dalan P, Calligaro A, Ursini F. Phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase of rats testis. *J Biol Chem* 1992;267:6142-6146.

Sakanashi TM, Keen CL, Hong KH. Zinc deficiency of rat peripheral blood neutrophils. *FASEB J* 1993;7:A723.

Schuckelt R, Flohe RB, Maiorino M, Roveri A, Reumkens J, Strassburger W, Ursini F, Wolf B, Flohe L. Phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase is a seleno-enzyme distinct from the classical glutathione peroxidase as evident from cDNA and amino acid sequencing. *Free Rad Res Comms* 1991;14:343-361.

Schulman S., Fessler H. Management of Acute Coronary Syndromes. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001;164:917-922.

Silvester JA, Timmins GS, Davies MJ. Photodynamically generated bovine serum albumin radicals: evidence for damage transfer and oxidation at cysteine and tryptophan residues. *Free Radic Biol Med* 1998;24(5):754-766.

Simpson PJ, Todd 3d RF, Mickelson JK, Fantone JC, Gallagher KP, Lee KA, Tamura Y, Cronin M, Lucchesi BR. Sustained limitation of myocardial reperfusion injury by a monoclonal antibody that alters leukocyte function. *Circulation* 1990;81:226-237.

Singh A, Lee KJ, Lee CY, Goldfard RD, Tsan MF. Relation between myocardial glutathione content and extent of ischemia-reperfusion injury. *Circulation* 1989; 80:1795-1804.

Singh RB, Niaz MA, Rastogi S. Usefulness of antioxidant vitamins in suspected acute myocardial infarction (the Indian experiment of infarct survival-3). *Am J Cardiol* 1996;77:232-236.

Singh RB, Niaz MA, Sharma JP, Kumar R, Bishnoi I, Begom R. Plasma levels of antioxidant vitamins and stress in patients with acute myocardial infarction. *Acta Cadardiol* 1994;49 (5):441-452.

Smith C, Mitchinson MJ, Auroma OI. Stimulation of lipid peroxidation and hydroxyl radical generation by the contents of human atherosclerotic lesions. *Biochem J* 1992;285:901-905.

Spallholz JE. Selenium and glutathione peroxidase: essential nutrient and antioxidant component of the immune system, In: *Antioxidant Nutrients and Immune Functions*. 8^a Ed. Plenum Publishing Corporation, 1990.

Stadtman ER. Oxidation of proteins by mixed-function oxidation systems: implication in protein turnover, aging and neutrophil function. *Trends Biochem Sci* 1986;11:11-12.

Stadtman ER. Metal ion-catalyzed oxidation of proteins: biochemical mechanisms and biological consequences. *Free Radic Biol Med* 1990;9:315-321.

Stadtman ER. Oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins by radiolysis and by metal-catalyzed reactions. *Annu Rev Biochem* 1993;62: 797-821.

Stampfer MJ, Hennekens CH, Manson JE, Colditz GA, Rosner B, Willett WC. Vitamin E consumption and risk of coronary disease in women. *N. Engl. Med* 1993;328:1444-1449.

Takahashi K, Avissar N, Whithin J, Cohen H. Purification and characterization of human plasma glutathione peroxidase: A selenoglycoprotein distinct from the known cellular enzyme. *Arch Biochem Biophys* 1987;256:677-686.

Tomas M, Sentí M, García-Faria F, Vila J, Torrents A, Covas M, Marrugat J. Effect of simvastatin therapy on paraoxonase activity and related lipoproteins in familial hipercholesterolemic patients. *Arteroscler Thromb Vasc Biol* 2000;20 (9):2113-2119.

Tzivoni D, Keren A, Granot H, Gottlieb S, Benhhorin J, Stern S. Ventricular fibrillation caused by myocardial reperfusion in Prinzmetal's angina. *Am Heart J* 1983;105:323-325.

Uchida K, Stadtman ER. Covalent attachment of 4-hydroxynonenal to glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. A possible involvement of intra- and intermolecular cross-linking reaction. *J Biol Chem* 1993;268(9):6388-6393.

Verma S, Fedak P, Weisel RD, Butany J, Rao V, Maitland A, Li RK, Dhillon B, Yau TM. Fundamentals of Reperfusion Injury for the Clinical Cardiologist. *Circulation* 2002;105:2332-2336.

Volpi A, Cavalli A, Turato R, Barlera S, Santoro E, Negri E, on behalf of the GISSI-3 Investigators Magenta and Milan, Italy. Incidence and short term prognosis of late sustained ventricular tachycardia after myocardial infarction: Results of the Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto Miocardico (GISSI-3) Data base. *Am Heart* 2001;142:87-92.

Wolff SP, Garner A, and Dean RT. Free radicals, lipids, and protein degradation. *Trends Biochem Sci* 1986;11:27-31.

Wolin MS, Belloni FL. Superoxide anion selectively attenuates catecholamine-induced contractile tension in isolated rabbit aorta. *Am J Physiol.* 1985;249: H1127-H1133.

Yamazaki S, Fujibayashi Y, Rajagopalan RE, Meerbaum S, Corday E. Effects of staged versus sudden reperfusion after acute coronary occlusion in the dog. *J. Am Cardiol* 1986;7:564 -572.

Yarnell JW, Baker IA, Sweetnam PM, Bainton D, O'Brien JR, Whitehead PJ, Elwood PC. Fibrinogen, viscosity and white blood cell count are major risk for ischemic heart disease: the Caerphilly and Speedwell collaborative heart disease studies. *Circulation* 1991;83:836-844.

Yellon DM, Baxter GF. Protecting the ischaemic and reperfused myocardium in acute myocardial infarction: Distant dream or near reality? *Heart* 2000;83:381-387.

Yu BP. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol Rev* 1994;74:139-162.

X. ANEXOS.

ANEXO.1

CARTA DE ACEPTACIÓN PARA PARTICIPAR EN LA INVESTIGACIÓN:

México, D. F., a _____ de _____ de 200____, Instituto Mexicano del Seguro Social.
Hospital General Centro Médico La Raza.

Por medio de la presente, acepto participar en el proyecto de investigación clínica titulado: **“CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL PLASMA DURANTE LA REPERFUSION EN EL INFARTO AGUDO DEL MIOCARDIO. “Efecto de una mezcla de agentes antioxidantes”** registrado en el comité de Investigación local con número 2003-691-0045.

El objetivo del estudio es evaluar el efecto protector de mezcla de agentes antioxidantes, como reductor del estrés oxidante (sustancias tóxicas) inducido por el tratamiento que recibiré para destruir el coágulo que está ocluyendo el paso de sangre en las arterias de mi corazón.

Se me ha explicado que mi participación consistirá en aceptar el tratamiento con la mezcla de agentes antioxidantes a dosis de recomendación diaria, a los tiempos 0,1,4 y 12 h de diagnosticado el infarto, o con una presentación similar sin medicamento según me toque al azar durante 24 hrs. Para evaluar su efecto se me realizará seguimiento y evaluación adicional, con toma de muestras sanguíneas al inicio, final de la trombólisis, 4, 12 y 24 horas para determinación de una sustancia que indica como está la oxidación en mi organismo, además de los procedimientos, estudios de laboratorio y de imagen que se me realizan habitualmente por mi enfermedad.

Declaro que se me ha informado ampliamente sobre los posibles riesgos, inconvenientes y beneficios de mi participación en el estudio que son los siguientes: efectos adversos como son rash, náusea, vómito y diarrea. Así como con la administración del antioxidante posiblemente no pueda reducirse la sustancia tóxica (estrés oxidante).

El investigador principal se ha comprometido a darme información oportuna sobre cualquier procedimiento alternativo adecuado que pudiera ser ventajoso para mi tratamiento, así como responder a cualquier pregunta y aclarar cualquier duda que le plantee acerca de los procedimientos que se llevaron a cabo, los riesgos, beneficios o cualquier otro asunto relacionado con la investigación o con mi tratamiento con El Dr. Daniel Montes al teléfono 55 37 58 89 o en el Hospital donde soy atendida por el servicio de Urgencias Adultos y Terapia Intermedia.

Entiendo que conservo el derecho de retirarme del estudio en cualquier momento en que lo considere conveniente, sin que ello afecte la atención médica que recibo en el instituto.

El investigador me ha asegurado que no se me identificará en las presentaciones o publicaciones que deriven de este estudio y que los datos relacionados con mi privacidad serán manejados en forma confidencial. También se ha comprometido a proporcionarme la información actualizada que se obtenga durante el estudio aunque este pudiera hacerme cambiar de parecer respecto a mi permanencia en el mismo.

Nombre y firma del paciente

Dr. Daniel Montes Cortés

Testigo.

Testigo.

ANEXO 2. TUBO. _____.

HOJA DE CAPTACION DE DATOS: Fecha: _____.

Nombre del Paciente: _____, Edad: _____.

Afiliación: _____, Sexo: _____, Teléfono: _____.

Talla: _____ m. Peso: _____ kg.

FACTORES DE RIESGO CORONARIO:

Diabetes Mellitus 2 SI NO Evolución: _____ Tx: _____.
Hipertensión arterial SI NO Evolución: _____ Tx: _____.
Tabaquismo SI NO Evolución: _____ Cantidad: _____.
Obesidad SI NO Evolución: _____ Tx: _____.
Dislipidemia SI NO Evolución: _____ Tx: _____.
Angina estable SI NO Evolución: _____ Tx: _____.

DIAGNOSTICO DE INFARTO AGUDO DE MIOCARDIO

1) DOLOR PRECORDIAL ISQUEMICO:

Hora de inicio: _____, Retraso de trombólisis: _____, Localización: _____.

2) Killip-kimball: _____.

3) TA: _____, TAM: _____, PVC: _____, FC: _____, FR: _____, TEMP: _____.

4) Parámetros Bioquímicos:

	Basal	Fin TBL	04 h.	12 h.	24 h.
CPK (MB)UI/L					
TGO UI/L					
DHL UI/L					
*Nmolas CRAT					
**Unidades CATP.					
***Actividad PON1					

* CRAT: Compuestos Reactivos al Ácido Tiobarbitúrico. ** CATP: Capacidad Antioxidante Total en Plasma.

*** PON1: Paraoxonasa.

COMPORTAMIENTO CLINICO

1) ARRITMIAS SI NO Hora: _____, Dx: _____, Tx: _____.

2) FALLA CARDIACA SI NO Hora: _____, Grado: _____.

3) MECANICAS SI NO Hora: _____, Tx: _____.

4) ANGINA POST-INFARTO SI NO Hora: _____, Tx: _____.

5) EXTENSIÓN DEL INFARTO SI NO Hora: _____, Tx: _____.