

Archivos de Cardiología de México

Volumen 74
Volume

Suplemento 2
Supplement

Abril-Junio 2004
April-June

Artículo:

El estrés oxidativo en miocardio. Una visión experimental

Derechos reservados, Copyright © 2004
Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez

Otras secciones de este sitio:

- ☞ Índice de este número
- ☞ Más revistas
- ☞ Búsqueda

Others sections in this web site:

- ☞ *Contents of this number*
- ☞ *More journals*
- ☞ *Search*



El estrés oxidativo en miocardio. Una visión experimental

Edmundo Chávez*

Resumen

La isquemia y la reperfusión del miocardio se acompañan de una cascada de eventos como el desacoplamiento de la fosforilación oxidativa, el desequilibrio de la homeostasis iónica, principalmente del calcio y la generación de radicales libres derivados del oxígeno. Estos eventos dan lugar a arritmias por reperfusión, daño vascular y no reflujo, aturdimiento miocárdico, edema y necrosis celular. Este conocimiento ha permitido el diseño de estrategias de cardioprotección farmacológica que han demostrado experimentalmente la utilidad de substancias como la eyelosporina, la perezona y la octylguanidina, que esperan la corroboración clínica.

Summary

OXIDATIVE STRESS WITHIN THE MYOCARDIUM: AN EXPERIMENTAL VIEW

Myocardial ischemia and reperfusion are related with a cascade of events such as oxidative phosphorylation uncoupling, ion homeostasis des-equilibrium, particularly of calcium ion, and the generation of oxygen-derived free radicals. These events give place, among others, to reperfusion arrhythmias, vascular injury, and cellular necrosis. This knowledge has allowed the design of pharmacological cardioprotection strategies, demonstrating the perezona, cyclosporine, and octylguanidine, usefulness, which needs to be clinically demonstrated.

Palabras clave: Isquemia y reperfusión coronaria. Estrés oxidativo. Cardioprotección.

Key words: Coronary ischemia and reperfusion. Oxidative stress. Cardioprotection.

La interrupción del flujo sanguíneo seguida por un período de reperfusión resulta en un daño severo de las estructuras del miocardio. Este daño involucra a una cascada de eventos tales como desacoplamiento de la fosforilación oxidativa, alteración de la homeostasis iónica, principalmente del Ca^{2+} , y generación de radicales libres derivados del oxígeno. En este contexto las mitocondrias son altamente vulnerables y juegan un papel predominante. Los radicales superóxido e hidroxilo pueden ser originados por distintos mecanismos, por ejemplo mediante la acción de las enzimas NADPH oxidasa membranal de linfocitos, la mieloperoxidasa de neutrófilos y la xantina oxidasa. En la cadena respiratoria mitocondrial el Complejo III formado por la CoQ-cit bc₁ oxidoreductasa es responsable de la formación de la mayor parte de los radicales libres, derivados del oxígeno (RLO). Debe hacerse notar que las mito-

condrias poseen mecanismos antioxidantes de defensa como las enzimas catalasa, superóxido dismutasa y la glutatión reductasa/peroxidasa. Sin embargo, existen condiciones como la reperfusión miocárdica en la cual la concentración de RLO sobrepasa la capacidad antioxidante de las enzimas. Los RLO que se forman durante la reperfusión miocárdica se asocian a la aparición de: i) arritmias por reperfusión, ii) daño vascular y no reflujo, iii) disminución de la contractilidad miocárdica (miocardio “aturrido”), iv) aceleración de necrosis tisular, y v) edema celular. Por lo tanto, existe una serie de manifestaciones debidas a la reperfusión que pueden ser transitorias como las arritmias o irreversibles como la necrosis celular. El no-reflujo es un daño vascular que ocurre cuando al removese la oclusión coronaria no se restaura el flujo sanguíneo. Esto se debe al edema de las células endoteliales y a la contractura del mio-

* Departamento de Bioquímica.

Correspondencia: Dr. Edmundo Chávez. Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez” (INCICH, Juan Badiano No. 1 Col. Sección XVI, Tlalpan 14080 México, D.F.).

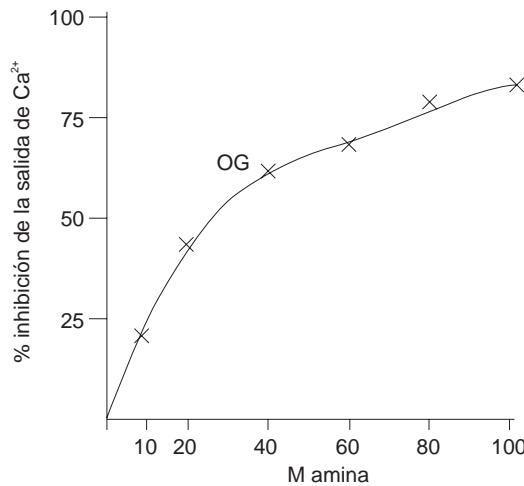


Fig. 1. Inhibición de la transición de la permeabilidad mitocondrial por el incremento en la concentración de octilguanidina (OG).

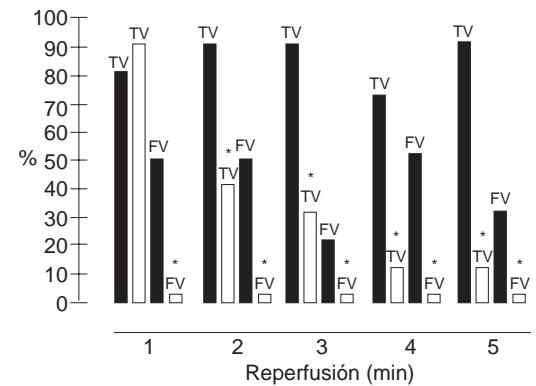


Fig. 2. Incidencia de arritmias ventriculares registradas minuto a minuto durante la reperfusión. Ratas control en barras negras y ratas tratadas en barras blancas. Se observa que la OG disminuyó la incidencia de taquicardias ventriculares y evitó la aparición de fibrilaciones ventriculares. Existen diferencias estadísticamente significativas (* $P < 0.05$). Método de evaluación distribución Z. TV: Taquicardia ventricular. FV: Fibrilación ventricular.

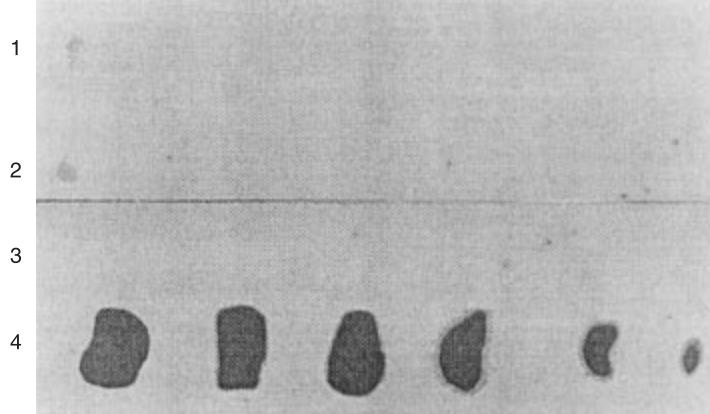


Fig. 3. Autorradiografía de la captación de talio201 en corazones controles tratados con octilguanidina.

cardio. El miocardio “aturdido” es causado por el retardo en la producción de ATP después de la reperfusión, puede originarse también por una disminución del Ca^{2+} citosólico.

El daño producido por los radicales libres derivados del oxígeno se asocia a la lipoperoxidación de las membranas celulares. Como es bien sabido las membranas están constituidas por una bicapa de fosfolípidos en la cual se encuentran embebidas las proteínas. Las dobles ligaduras de los ácidos grasos, que forman a los fosfolípidos, son el blanco principal de los RLO; al unirse a esos sitios se produce la fragmentación de los fosfolípidos formándose dienos conjugados y malón dialdehído. Como consecuencia de lo an-

terior se forman canales inespecíficos en las membranas perdiéndose los gradientes iónicos, y se produce la liberación de enzimas intracelulares. Las proteínas y el DNA nuclear y mitocondrial son también blanco de los RLO. En las proteínas se forman entrecruzamientos debido a la oxidación de los grupos tioles, esto trae consigo la pérdida de la función de transporte o enzimática, según sea el caso. La oxidación en el DNA produce la formación de bases “raras” como la 8-oxo-guanina dando origen a mutaciones.¹

Estos cambios en la permeabilidad selectiva de las membranas inducen la acumulación masiva del Ca^{2+} . En el citosol un aumento en la fracción libre de este catión, más allá de 1 μM , en ocasiones hasta 50 μM , produce las arritmias por reperfusión. Además el calcio induce la activación de fosfolipasas lo que contribuye al daño membranal. En las mitocondrias la acumulación del catión Ca^{2+} provoca la transición de la permeabilidad membranal selectiva a una permeabilidad no selectiva, a través de un poro. Este poro, de un diámetro de 3 nm, permite la salida de nucleótidos de adenina y piridina, así como de iones y metabolitos localizados en la matriz mitocondrial.² La naturaleza química del poro no está bien definida; sin embargo, un número importante de trabajos atribuyen la formación del poro a la adenín nucleótido translocasa.³ Las evidencias para señalar a esta proteína como el poro inespecífico derivan del hecho de que el atractilósido y el carboxiatractilósido, que

inhiben el transporte de ADP/ATP promueven la apertura del poro por fijar a la translocasa en su conformación citosólica, en tanto que el ADP y el ATP cierran el poro por fijar a la translocasa hacia el lado de la matriz mitocondrial.³

De una amplia gama de resultados experimentales se ha podido concluir que en el daño miocárdico por reperfusión subyace la transición de la permeabilidad mitocondrial.⁴ Resultados de nuestro laboratorio demuestran que si la transición de la permeabilidad es inhibida no hay daño por reperfusión. Por ejemplo, en experimentos efectuados en corazones de rata, hemos demostrado que el inmunosupresor cyclosporina A y la quinona perezona, que inhiben la salida inespecífica del Ca²⁺ mitocondrial, también protegen del daño por reperfusión.^{5,6} Así mismo, hemos demostrado que en mitocondrias de ratas hipotiroideas no existe daño membranal inducido por la acumulación masiva del Ca²⁺. Esto lo atribuimos a una disminución en el contenido del fosfolípido cardiolipina que rodea a la translocasa de adenín nucleótidos, y que puede ser un sitio de fijación del Ca²⁺ en la matriz mitocondrial. Consecuentemente, en las ratas hipotiroideas no se presenta el daño miocárdico por reperfusión.⁷ Recientemente demostramos que la alquilamina octilguanidina bloquea la apertura del poro inespecífico inducido por la acumulación del calcio.⁸ Como se observa en la *Figura 1* concentraciones crecientes de octilguanidina i.e., 10-40 μM inhiben la salida espontánea del Ca²⁺ acumulado en la matriz mitocondrial, lo que es un indicio de la transformación de la adenín nucleótido translocasa en el poro de transición. Proponemos que la octilguanidina inhibe la transición de la permeabilidad por unirse, mediante su carga positiva, a sitios negativos de la membrana interna mitocondrial. Estos sitios negativos podrían estar localizados en la adenín nucleótido translocasa ya que esta proteína tiene 15 residuos de glutamato y 6 de aspartato; esta bolsa negativa debe ser suficientemente amplia para acomodar al grupo guanido que tiene un volumen máximo de 79.25 Å,³ en tanto que el residuo hidrocarbonado, de 8 carbonos, con una dimensión de 7.62 Å, se solubiliza en la bicapa lipídica manteniendo fijo al reactivo.

Considerando este resultado y los antecedentes en los cuales se demuestra que los inhibidores de la transición de la permeabilidad mitocondrial

protegen del daño por reperfusión, utilizamos a la octilguanidina como protector miocárdico. Se inyectó, intraperitonealmente, a las ratas con una solución conteniendo octilguanidina a una dosis de 5 mg/kg de peso corporal, 10 minutos antes de provocar la isquemia. La isquemia se lleva a cabo mediante la ligadura de la arteria coronaria descendente anterior izquierda; después de 5 min se retira la ligadura para iniciar la reperfusión. Se colocan electrodos de superficie para monitorear el electrocardiograma y mediante una cánula localizada en la femoral se coloca el transductor de presión. El área isquémica y el daño por reperfusión fueron evaluados inyectando 250 μCi de ²⁰¹Tl a través de la cánula colocada en la femoral. Se tomaron muestras del ventrículo izquierdo para autorradiografía.

La *Figura 2* muestra el análisis de la incidencia de taquicardias ventriculares y fibrilación ventricular. Como se observa en las ratas control, no tratadas con octilguanidina, el porcentaje de latidos anormales, característicos de la reperfusión, permaneció alto a lo largo del tiempo experimental. Sin embargo, el efecto protector de la octilguanidina se manifestó a través de la disminución de las arritmias y al final del experimento se alcanzó un ritmo sinusal.

La *Figura 3* ilustra la distribución del ²⁰¹Tl en el tejido miocárdico durante la isquemia y la reperfusión. Las líneas 1 y 2 señalan que, como se esperaba, durante la isquemia en ratas no tratadas y tratadas, respectivamente, el ²⁰¹Tl no penetra a las células por falta de ATP. La línea 3 muestra que debido al daño celular, durante la reperfusión, el ²⁰¹Tl permanece sin ser transportado hacia el interior celular. De manera interesante en la línea 4 se observa que las células de corazones tratados con octilguanidina son capaces de incorporar la marca radiactiva, indicando un buen estado de fosforilación oxidativa mitocondrial. Los estudios con la octilguanidina refuerzan el hecho de que en el daño miocárdico por estrés oxidativo está involucrado el daño mitocondrial por acumulación del Ca²⁺, ya que la octilguanidina al proteger de la transición de la permeabilidad evita el daño miocárdico por reperfusión. Los resultados obtenidos pueden ser un primer paso para, en un futuro cercano, introducir a la guanidina como un fármaco para su uso en pacientes candidatos a la terapia por reperfusión.

Referencias

1. ZENTELLA A: *Envejecimiento, apoptosis y su relación con las mitocondrias*. En: Mitocondria. ME Vázquez Memije y M. Tuena de Gómez Puyou, Eds. Editorial Prado 2002: 169-210.
2. BERNARDI P: *Mitochondrial transport of cations: Channels, exchangers, and permeability transition*. Physiol Rev 1999; 79: 1127-1155.
3. HAWORTH RA, HUNTER DR: *Control of the mitochondrial permeability transition pore by high-affinity binding at the ADP/ATP translocase in permeabilized mitochondria*. J Bioenerg Biomembr 2000; 32: 91-96.
4. LEDUCQ N, BONO F, SULPICE T, ET AL: *Role of peripheral benzodiazepine receptors in mitochondrial, cellular, and cardiac damage induced by oxidative stress and ischemia-reperfusion*. J Pharm Exp Ther 2003; 306: 828-837.
5. ARTEAGA D, ODOR A, LÓPEZ RM, ET AL: *Impairment by cyclosporin A of reperfusion induced arrhythmias in rats*. Life Sci 1992; 51: 1127-1134.
6. TÉLLEZ F, CARBAJAL K, CRUZ D, ET AL: *Effect of perezone on arrhythmias and markers of cell injury during reperfusion in the anesthetized rat*. Life Sci 1999; 65: 1615-1623.
7. BOBADILLA I, FRANCO M, CRUZ D, ET AL: *Hypothyroidism provides resistance to reperfusion injury following myocardium ischemia*. 2001; 33: 449-506.
8. CHÁVEZ E, PEÑA A, ZAZUETA C, ET AL: *Inactivation of mitochondrial permeability transition pore by octylguanidine and octylamine*. 2000; 32: 193-198.

