

Radicales libres derivados de oxígeno. Su papel en Cardiología

I. Iglesias* / I. García Bolao* / M. Aparici* / P. Alzamora* / E. Alegría*

RESUMEN

Los radicales libres de oxígeno son moléculas altamente reactivas que se caracterizan por tener un electrón no emparejado en uno de sus orbitales más externos. A ellos se han atribuido algunos fenómenos patológicos, que en el campo de la cardiología suceden fundamentalmente durante la reperfusión de un tejido que se encontraba isquémico previamente. Durante la isquemia se produce la preparación del terreno para que en la reintroducción del oxígeno se produzca una gran producción de estas moléculas. El objetivo que se ha perseguido en modelos de experimentación animal es reducir el daño inducido por radicales libres con muy diversos agentes. Es probable que en un futuro estos agentes formen parte del tratamiento convencional de ciertas patologías cardíacas.

Introducción

Numerosos estudios de experimentación animal apoyan la génesis de radicales libres como mecanismo del daño producido en diversos órganos tras la reperfusión. En vista de ello, se han llevado a cabo numerosos en-

sayos en modelos animales con la finalidad de descubrir agentes que reduzcan la lesión producida por estas moléculas. En este artículo revisamos someramente el daño producido por los radicales libres en la reperfusión del miocardio, desde la definición hasta las vías futuras del tratamiento. El lector interesado podría encontrar más datos en la bibliografía citada en el texto.

Definición

Un radical libre (RL) es una molécula o átomo que contiene electrones no emparejados.

Un electrón, dentro de la estructura de un átomo, queda definido por cuatro números cuánticos: n , que define el nivel de energía principal y toma valores enteros (1, 2, 3...), l que define el subnivel energético que ocupa el electrón dentro de n y que toma valores de 0 a $n - 1$, m que define el orbital en cada subnivel u orientación de la nube electrónica que rodea al núcleo. Para cada subnivel hay $2l + 1$ orbitales y cada orbital se designa con una letra (s, p, d, f...). Por último, s o número de spin, que toma valores de $1/2$ a $-1/2$ y que indica el giro del electrón sobre sí mismo en un orbital. Un orbital no puede estar ocupado por más de dos electrones y por el principio de exclusión de Pauli, en un átomo no existen 2 electrones con los cuatro números cuánticos iguales.

Un radical libre tiene en uno de sus orbitales externos únicamente un

electrón, que "elige" su número cuántico s y que por tanto puede variar. Gracias a este electrón no emparejado los radicales libres son habitualmente inestables y altamente reactivos, aunque el nivel de estabilidad varía ampliamente, siendo los más reactivos los RL derivados de oxígeno, con una vida media que varía de nanosegundos a milisegundos.

Mecanismos de detección

Se han desarrollado multitud de técnicas de detección de los RL (Tabla I); muchas de ellas son indirectas y poco específicas y no cuantifican su producción.

La técnica que sirve para detectar, cuantificar y caracterizar los RL es la resonancia paramagnética electrónica (EPR). Esta técnica está basada en que un electrón no emparejado en un orbital puede adoptar números de spin diferentes, que en presencia de un campo magnético, tienen diferente energía. Debido a que los RL derivados de oxígeno tienen una vida media muy corta, se deben detectar a bajas temperaturas (77°) o con moléculas atraparoras de spin.

Daño celular mediado por RL

Los radicales libres de oxígeno son responsables de muchos efectos biológicos. Se forman durante el metabolismo normal, en la fosforilación oxidativa mitocondrial, ya que el oxígeno

* Dpto. de Cardiología y Cirugía Cardiovascular. Clínica Universitaria. Facultad de Medicina. Universidad de Navarra. Pamplona.

Tabla I. METODOS DE DETECCION DE RL

- Indicadores no específicos de daño celular
Calcio celular¹
LDH¹
GSH, GSSG²
No captación colorantes vitales³
Malonildialdehído
- Detección radical superóxido (O_2^-).
Espectrofotometría
Formación de adenocromo (a partir de adrenalina)⁴
Reducción de citocromo C^{5,6}
Reducción del Nitrozol de tetrazolio
- Detección del radical hidróxilo (OH^-)
Detección de dimetilsulfóxido^{5,7}
Producción de $^{14}CO_2$ a partir de benzoato-C¹⁴
Hidroxilación aromática de benzoato o ácido hidroxibenzoico⁸
Formación de etileno⁵
- Quimoluminiscencia de radicales de oxígeno
- Resonancia paramagnética de electrón (EPR)^{9,10,11}

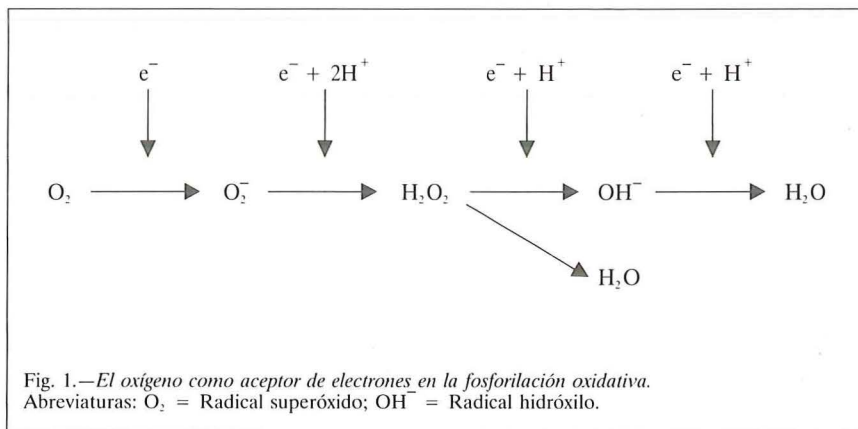
Abreviaturas: LDH: Lactato deshidrogenasa; GSH: Glutacion reducido; GSSG: Glutacion oxidado.

no molecular (O_2) es el último aceptor de electrones (Fig. 1). En este proceso el O_2 reducido parcialmente no es dañino para la célula, al encontrarse fuertemente ligado a los sitios activos de las enzimas mitocondriales, pero la formación de RL fuera de esta localización puede resultar en lesión celular.

Los radicales libres derivados de oxígeno, son altamente reactivos y tienen una vida media de escasos microsegundos. Así, es muy poco probable que un RL formado en la mitocondria pueda dañar el DNA celular, pues su radio de acción es muy corto (30 Å para el radical hidroxilo)¹².

Los RL pueden actuar como oxidantes (robando un electrón) o como reductores (donando el electrón no emparejado). Esta es una característica esencial, pues permite que los RL den reacciones en cadena, extendiéndose una reacción que en un principio fue localizada. Cuando dos RL reaccionan entre sí puede formarse una molécula estable. Esta parece ser la razón por la cual termina una reacción en cadena¹³.

Los RL reaccionan con todas las biomoléculas, pero la reacción más estudiada es la que se produce con las



cadenas laterales de ácidos grasos poliinsaturados de los fosfolípidos de membrana.

En esta reacción (Fig. 2) se produce la peroxidación lipídica de estos ácidos grasos que termina en una alteración estructural y funcional de la membrana celular y la consiguiente lisis¹⁴. Los hidroperóxidos lipídicos formados pueden descomponerse posteriormente en productos altamente citotóxicos, como son los aldehídos¹⁵.

Además de reaccionar con ácidos grasos poliinsaturados, los RL reaccionan con proteínas, produciendo oxidación de las enzimas que contienen sulfhidrilos que lleva a la inacti-

vación de dichas enzimas; con los glúcidos produciendo depolimerización de los polisacáridos y con los ácidos nucleicos, causando mutación o rotura de las hebras de DNA.

El peróxido de hidrógeno (H_2O_2) no es propiamente un RL, pero puede resultar tóxico para la célula de manera similar a éstos y a su vez puede ser origen de RL (Fig. 3) a través de las reacciones de Haber-Weiss y de Fenton¹⁶. Estas reacciones son lentas pero se aceleran con la presencia de hierro, cuya disponibilidad aumenta durante la isquemia-reperfusion²⁹.

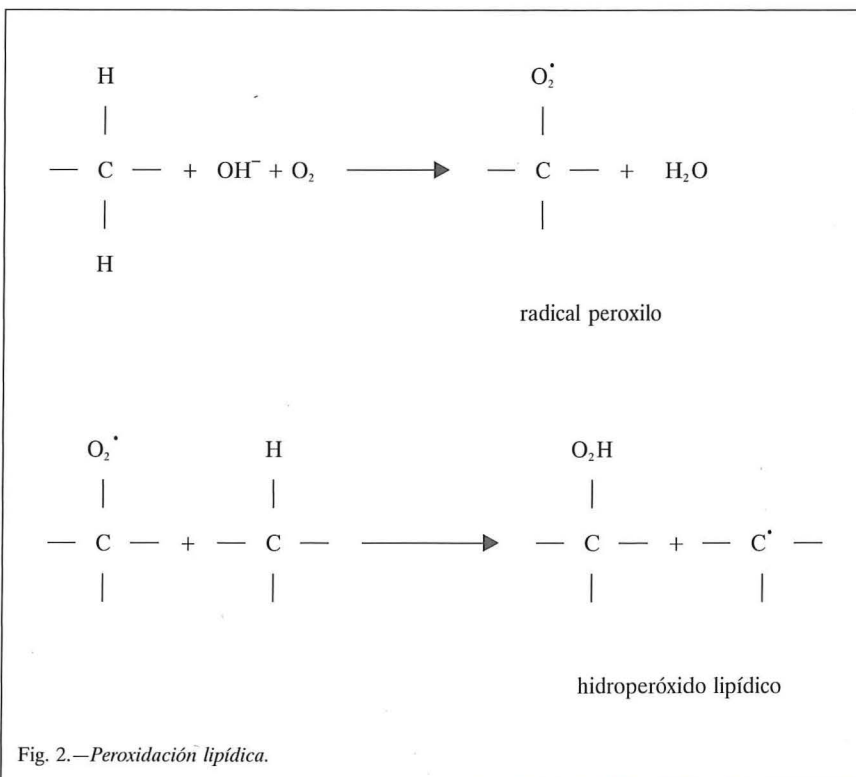




Fig. 3.—Reacciones de Fenton y Haber-Weiss.

Defensa natural contra los radicales libres¹⁹

Existen en la célula mecanismos de defensa contra el daño que pueden inducir los RL. Uno de los mecanismos es evitar el acúmulo excesivo de hierro y cobre, que como metales de transición, pueden tener varios números de oxidación y ser origen de radicales. Los RL pueden tener que ver en la patogenia de la hemocromatosis y de la enfermedad de Wilson¹⁷.

La superóxido dismutasa es una enzima esencial para la vida aeróbica que se encuentra en la mitocondria, donde contiene manganeso y en el citoplasma, donde contiene manganeso y cobre. Transforma el radical superóxido en peróxido de hidrógeno (Fig. 4). El peróxido de hidrógeno puede ser metabolizado por dos enzimas diferentes: la glutatión peroxidasa, única enzima humana que contiene selenio¹⁸, que oxida el glutatión, reduciendo de esta manera el peróxido de hidrógeno, y la catalasa, que descompone el H_2O_2 en H_2O y O_2 (Fig. 5).

Las membranas celulares y las LDL circulantes poseen además tocoferol, una molécula lipídica, que actúa como "rompedora" de la reacción en cadena iniciada por los RL. Contiene un radical OH cuyo átomo de hidrógeno es fácil de separar. De esta manera, cuando se generan los radicales peróxido y alcóxido se combinan con este antioxidante (Fig. 6). Esto convierte el tocoferol en un nuevo RL, que es poco reactivo y puede migrar a través de la membrana y ser convertido de nuevo en tocoferol al reaccionar con la vitamina C.

Génesis de los radicales libres durante isquemia-reperusión

Durante un periodo de isquemia se producen en un tejido las condiciones necesarias para que durante la reperusión pueda llegar a producirse daño celular por la génesis de RL. Es muy difícil delimitar qué parte del daño celular es debida a la isquemia

y qué parte es debida a la reperusión, pues no puede establecerse un límite exacto antes del cual no se produce daño isquémico y después del cual todo el daño es por reperusión y supuestamente por la génesis de radicales libres.

La secuencia de acontecimientos puede ser la siguiente: en un tejido isquémico disminuye o cesa la producción de ATP. La fosforilación oxidativa mitocondrial cesa al disminuir la disponibilidad del último aceptor de electrones que es el O_2 . Los depósitos celulares de ATP van consumiéndose y es transformado en ADP y AMP. La capacidad de regeneración de ATP es muy limitada. El AMP va siendo metabolizado a adenosina y finalmente a hipoxantina, que va acumulándose intracelularmente.

El almacén de calcio por el retículo endoplasmático precisa energía (ATP), pues se realiza en contra de gradiente. Cuando la disponibilidad

del ATP es baja el calcio empieza a acumularse en el citoplasma²⁰ y esto conduce a la activación de varias proteasas citoplasmáticas. Una de ellas, probablemente la calpaina, produce la transformación irreversible de xantina deshidrogenasa en xantin-oxidasa, paso que es clave para la génesis de radicales libres, pues es la enzima que va a metabolizar la hipoxantina acumulada (al menos en algunas especies animales) cuando exista oxígeno²¹, pues utiliza esta molécula como aceptor de electrones, transformándola en radical superóxido^{21, 22}.

La fosfolipasa A_2 también se activa ante el aumento del calcio citoplasmático²³. Esto permite la iniciación de una cascada de reacciones que pueden ser la génesis de RL (Fig. 7). El metabolismo del ácido araquidónico (liberado de la membrana celular por la fosfolipasa A_2) por vía de la ciclooxigenasa produce endoperoxidos que son RL. La lipooxigenasa, enzima que puede también metabolizar el ácido araquidónico, está presente en los leucocitos y convierte el ácido graso en leucotrienos que actúan como sustancias quimiotácticas y atraen de esta manera y activan nuevos leucocitos²⁴.

El sistema del complemento es activado también por proteasas²⁵. La producción de C_{5a} y de C_{3b} tiene efectos importantes en los leucocitos. La fracción C_{5a} es quimiotáctica²⁵ y la



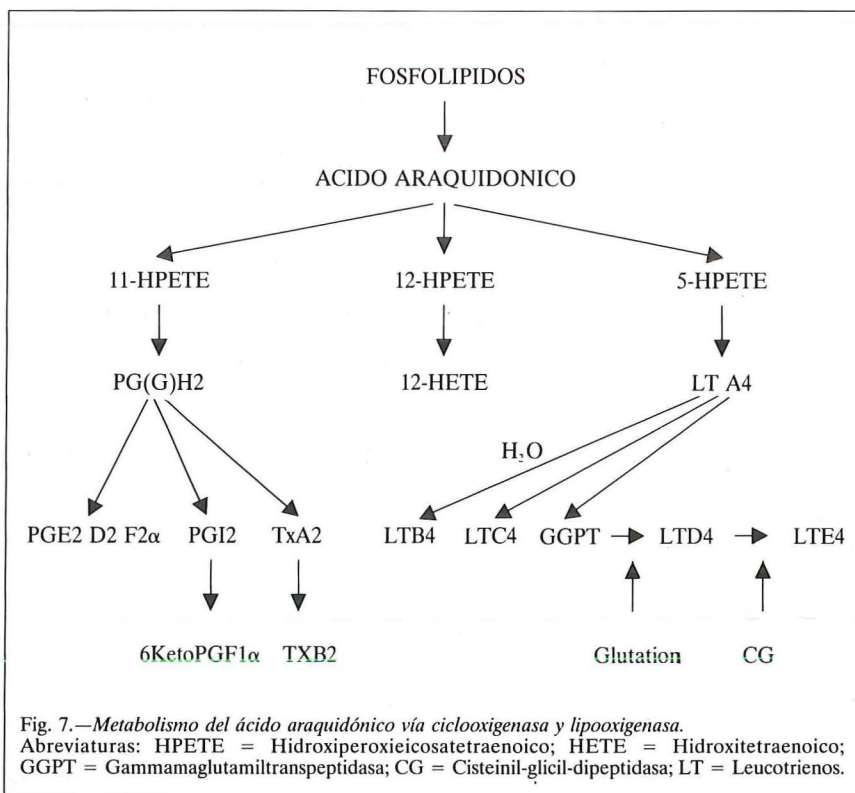
Fig. 4.—Reacción catalizada por la superóxido dismutasa.



Fig. 5.—Reacciones catalizadas por las enzimas glutatión peroxidasa y catalasa.



Fig. 6.—Reacción del tocoferol.



fracción C_{3b} se une a la membrana celular endotelial donde funcionará como receptor que será reconocido por el leucocito activado^{26, 27}. Tras la activación leucocitaria hay un cambio conformacional en una proteína de membrana que es un heterodímero, CD11b-CD18 o Mo-1, que expone la zona activa, que en presencia de magnesio puede ligarse a la célula endotelial, al C_{3b} , produciéndose un acúmulo leucocitario que puede ser origen de radicales libres.

Con la introducción del O_2 en la reperfusión muchas de las reacciones que estaban detenidas pueden recomenzar. La xantina-oxidasa metaboliza la hipoxantina acumulada a ácido úrico, con la generación de radical superóxido, que después es metabolizado por la superóxido dismutasa. El peróxido de hidrógeno que se genera por la SOD (Fig. 4) no es un radical libre, pero como ya ha quedado señalado puede ser origen de RL (Fig. 5). La capacidad celular de metabolizar el peróxido de hidrógeno se ve sobrepasada por su gran producción. La reacción de Haber-Weiss y Fenton se acelera debido a que el hierro que se encuentra unido a la ferritina es liberado al interactuar con el superóxido. Esto resulta una gran producción de radical hidróxilo.

El leucocito polimorfonuclear contiene una enzima NADPH oxidasa en su superficie, que se activa al contacto del leucocito con la célula diana^{13, 27, 30}. La activación de la enzima lleva a la producción local de O_2 (Fig. 8). Es así como a ambos lados de la membrana celular endotelial se generan RL.

Hay que añadir además la generación de hipoclorito a partir del leuco-

cito polimorfonuclear, generado por la acción de la mieloperoxidasa (Fig. 9)^{13, 27, 31}.

El leucocito polimorfonuclear probablemente tenga un papel fundamental en el daño tisular inducido por RL^{32, 33, 34}. Además de todas éstas, existen otras fuentes de RL como son la autooxidación de catecolaminas circulantes³⁵, hemoglobina²⁸, flavinas y ferridoxinas¹³.

Todo el conjunto de reacciones se encuentra detallado en la figura 10.

Papel de los RL en Cardiología

Podemos dividir el papel de los RL en Cardiología en cuatro apartados:

Isquemia y reperfusión

Tras un periodo de isquemia tisular, la reperfusión puede originar daño celular por varios mecanismos, entre los cuales cabe citar la producción de RL. Con la técnica de resonancia paramagnética de electrón se ha demostrado la producción de gran cantidad de RL derivados del oxígeno 30-60 segundos tras reperfusión postisquémica¹⁷. Este hecho es importante hoy en día debido al uso generalizado de los agentes trombolíticos para el tratamiento del infarto agudo de miocardio.

Arritmias de reperfusión

Uno de los mecanismos propuestos es el daño celular inducido por RL²⁶.



NADPH oxidasa

Fig. 8.—Reacción catalizada por la NADPH oxidasa.

mieloperoxidasa



Fig. 9.—Reacción catalizada por la mieloperoxidasa.

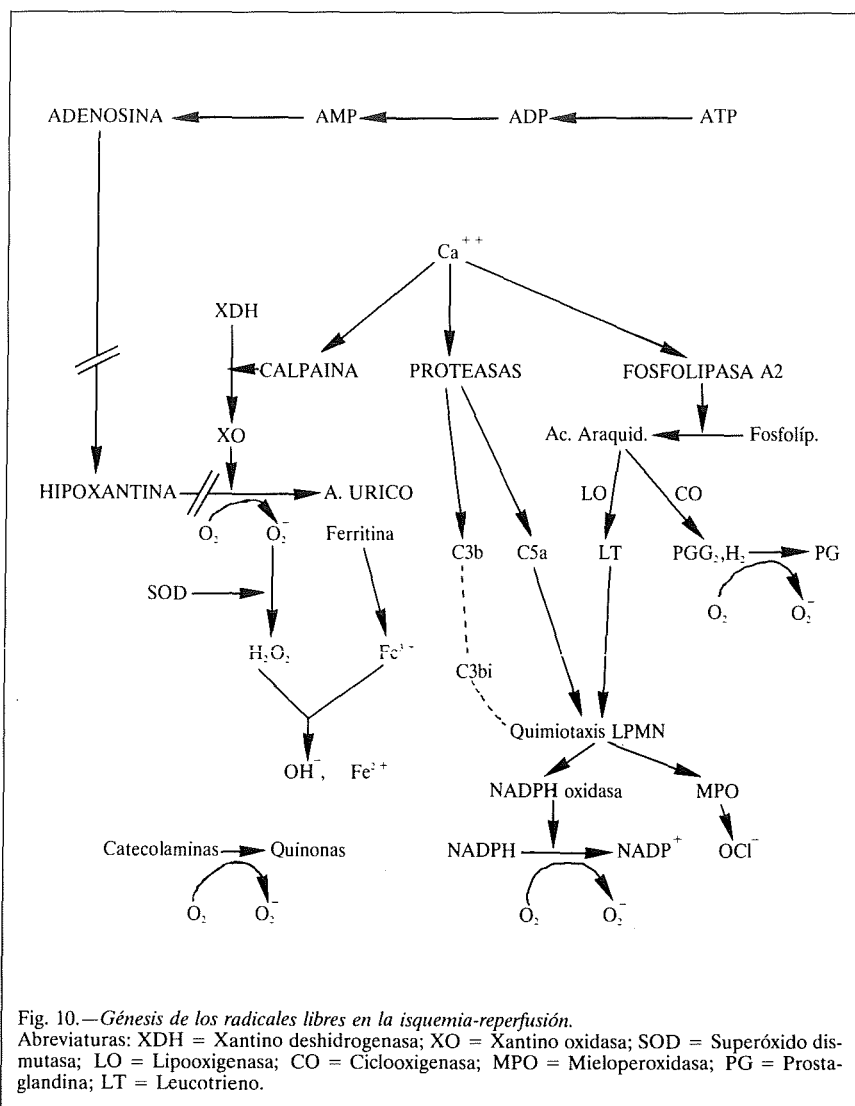


Tabla II. MECANISMOS PROPUESTOS PARA EXPLICAR LAS ARRITMIAS DE REPERFUSIÓN

1. Daño inducido por la producción de RL
2. Liberación de catecolaminas en zona reperfundida
3. Liberación de potasio, hidrogeniones y lipofosfátidos de las zonas necrosadas

Tabla III. PROCESOS EN LOS QUE ESTA IMPLICADA LA PRODUCCION DE RADICALES LIBRES (TOMADO DE SOUTHRON²⁹)

1. Defensa contra microorganismos
2. Enfermedades inflamatorias (artritis reumatoide y otras)
3. Lesiones pulmonares
Toxicidad por oxígeno normobárico y displasia broncopulmonar
Síndrome del distress respiratorio del adulto
Enfisema pulmonar y tabaquismo
4. Fibroplasia retrolental (retinopatía del pretérmino)
5. Daño por reperfusión. Corazón
Tubo digestivo e hígado
Riñón y Piel
6. Daño cerebrovascular
7. Arterioesclerosis
8. Envejecimiento
9. Efectos tóxicos (paraquat, tetracloruro de carbono, adriamicina)
10. Carcinogénesis

La peroxidación lipídica puede alterar la permeabilidad iónica de la membrana y ser ésta la causa de las arritmias. Hay trabajos que han encontrado una reducción en la incidencia de fibrilación ventricular tras reperfusión con el uso de superóxido dismutasa, catalasa, manitol y otros "barredores" de RL³⁷.

Sin embargo, la lesión por RL no es el único mecanismo propuesto para explicar las arritmias de reperfusión (Tabla II).

Toxicidad cardíaca por adriamicina

En presencia de oxígeno la adriamicina reacciona con él, y produce radical superóxido que puede iniciar la cascada de reacciones típica de los RL. Se han usado múltiples medios para evitar la toxicidad de la adriamicina, entre los que se encuentran el

tocoferol, ubiquinona, ácido ascórbico, adenosina, N-acetilcisteína y quelantes del hierro.

Cirugía cardíaca y trasplante cardíaco

Durante la cirugía con circulación extracorpórea, el corazón permanece isquémico durante un periodo variable de tiempo. Se intenta proteger el daño isquémico con la realización de la cirugía en hipotermia y con cardioplejía hipercalémica. En el momento de desclamar la aorta se produce la reperfusión miocárdica, habitualmente con sangre hiperoxigenada.

Una situación similar ocurre en el caso del trasplante cardíaco. Se ha dado mucha importancia a la protección del miocardio en el periodo de isquemia y mucha menos a la protección del miocardio en la reperfusión.

En teoría los scavengers o barredores de radicales libres deberían de ser útiles, y así parece demostrarlo algunos trabajos recientemente publicados: la presencia de scavengers de RL en el terreno coronario durante los primeros segundos de la reperfusión es de vital importancia según estos trabajos³⁸.

Hay otros procesos de la patología humana en los que los radicales libres son importantes para explicar su patología (Tabla III)³⁹.

Vías de tratamiento

Se ha experimentado en modelos animales el uso de agentes que en teoría podrían reducir el daño miocárdico producido por los RL (Tabla IV). Con ellos lo que se intenta es actuar en alguna de las reacciones ya comentadas en la génesis de los RL tras la reperfusión que sigue a un periodo de isquemia, bien con la eliminación de los que ya se han formado (scavengers) o bien con factores que impidan su producción, tanto a partir de la

Tabla IV. VIAS DE TRATAMIENTO EXPERIMENTADAS PARA REDUCIR EL DAÑO PRODUCIDO POR RADICALES LIBRES

- Scavengers de los radicales libres
O₂: Superóxido dismutasa ^{41,47}
N-2 mercaptopropionilglicina ⁴⁸
H₂O₂: Catalasa ^{41,42,44,45}
Peroxidasa ^{49,50}
OH⁻: Manitol
Dimetilsulfóxido ⁵⁴
Dimetiltiourea
- Inhibidores de la xantino-oxidasa
Alopurinol ⁵⁵⁻⁶¹
Oxipurinol ^{60,62}
- Quelantes del hierro
Desferroxiamina ⁶³
- Agentes antileucocitarios
Anticuerpos antileucocitarios ^{64,65}
Hidroxiurea
- Inhibidores de la quimiotaxis leucocitaria y de su acumulación
Ibuprofen ⁶⁶
PGI₂ ⁶⁷
Nafazatrom ⁶⁸
BW 755C ⁶⁹
Propylgallate
- Bloqueantes de la adhesión leucocitaria
Anticuerpo antiMo-1 ⁷⁰
- Antioxidantes
 α Tocoferol
Glutation
Coenzima Q₁₀ ⁷¹
- Precursores del glutation
N-acetilcisteína ⁷²

Tabla V. POSIBLES MECANISMOS DE LA VARIABILIDAD DE LOS DATOS EXPERIMENTALES

- Controles inadecuados
- Agentes terapéuticos no puros o dosis inadecuadas
- Contenido miocárdico de xantino-oxidasa variable según las especies
- Efecto del flujo colateral en el tamaño del infarto
- Duración del efecto del salvado
- Acción intra o extracelular de los scavengers

célula endotelial como del leucocito polimorfonuclear. Con algunas excepciones, la mayoría de los agentes son eficaces en la disminución del daño inducido por la génesis de los RL, aunque los resultados son todavía discordantes. Ello hace que sean necesarios más datos de experimentación antes de comenzar con ensayos clínicos humanos. Las causas más importantes

de los resultados discrepantes se enumeran en la tabla V ⁴⁰.

Perspectivas para el futuro

Es conocida la corta vida media de algunos de los scavengers de radicales libres, como la SOD, cuya vida media es de aproximadamente 10 minutos. Este hecho puede impedir a la enzima cruzar la membrana lipídica celular e impedir su acción intracelular. La unión covalente de la enzima con polietilenglicol retrasa su excreción renal aumentando de esta manera su vida media. Este hecho puede aumentar la eficacia de la SOD ⁷³.

La SOD y catalasa con polietilenglicol puede penetrar al interior de la célula isquémica, aunque con lentitud. Una manera de acelerar la entrada es encubrirlos con liposomas ⁷⁴. La capa de lípidos se fija a la membrana celular o es captada por endocitosis. Estas formas de enzimas no se comportan sin embargo como scavengers fuera de la célula. La combinación de este tipo de preparación junto con enzimas con polietilenglicol puede ser altamente eficaz en el tratamiento del daño miocárdico inducido por radicales libres en la reperfusión.

Bibliografía

- Shasby DM, Lind SE, Sharby SS, Goldsmith JC y Hunningshake GW. Reversible oxidant-induced increases in albumin transfer across cultured endothelium: Alterations in cell shape and calcium homeostasis. *Blood* 65: 605-614, 1985.
- Thomas EI, Grishman MB, Melton DF y Jefferson MM. Evidence for a role of taurine in the in vitro oxidative toxicity of neutrophils toward erythrocytes. *J Biol Chem* 260: 3.321-3.329, 1985.
- Jennische E y Hansson HA. Disulfiram is protective against postischemic cell death in the liver. *Acta Physiol Scand* 122: 199-201, 1984.
- Misra HP y Fridovich I. The role of superoxide anion in the autooxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J Biol Chem* 247: 3.170-3.175, 1972.
- Fantone JC y Ward PA. Role of oxygen-derived free radical and metabolites in leukocyte dependent inflammatory reactions. *Am J Pathol* 107: 395-418, 1982.
- McCord JM y Fridovich I. The reduction of cytochrome by milk xanthine oxidase. *J Biol Chem* 243: 5.753-5.760, 1968.
- Sbarra AJ y Karnovsky ML. The biochemical basis of phagocytosis: I. Metabolic changes during the ingestion of particles by polymorphonuclear leukocytes. *J Biol Chem* 234: 1.355-1.362, 1959.
- Richmond R, Halliwell A, Chauhan J y Darbre A. Superoxide dependent formation of hydroxyl radicals. Detection of hydroxyl radicals by the hydroxylation of aromatic compounds. *Anal Biochem* 118: 328, 1981.

- Zweier JL, Flaherty JT y Weisfeldt ML. Direct measurement of free radical generation following reperfusion of ischemic myocardium. *Proc Natl Acad Sci. USA* 84: 1.404-1.407, 1987.
- Knowles PF, Gibson JF, Pick FM y Bray RC. Electron spin-resonance evidence for enzymic reduction of oxygen to a free radical, the superoxide ion. *Biochemistry* 111: 53, 1969.
- Buettner GR y Oberley LW. Considerations in the spin-trapping of superoxide and hydroxyl radical in aqueous systems using 5,5-dimethyl-1-pyrroline-n-oxide. *Biochem Biophys Res Comm* 83: 69-74, 1978.
- Hutchinson F. The distance that a radical formed by ionizing radiation can diffuse in a yeast cell. *Radiat Res* 7: 474-483, 1957.
- Southorn PA y Powis G. Free radicals in medicine. I. Chemical nature and biologic reactions. *Mayo Clin Proc* 63: 381-389, 1988.
- Barber AA y Bernheim F. Lipid peroxidation: Its measurement, occurrence and significance in animal tissues. *Adv Gerontol Res* 2: 355-403, 1987.
- Estebauer H, Zollner H y Schaur RJ. Hydroxylalkenals: Cytotoxic products of lipid peroxidation. *ISI Atlas Sci Biochem* 1: 311-315, 1988.
- Haber F y Weiss Y. The Catalytic decomposition of hydrogen peroxide by ion salts. *J Proc Roy Soc* 147: 332-351, 1934.
- Halliwell B y Gutteridge JMC. The importance of free radicals and catalytic metal ions in human disease. *Mol Aspects Med* 8: 89-103, 1985.
- Levander OA. A global view of human selenium nutrition. *Ann Rev Nutr* 7: 227-250, 1987.
- Halliwell B. Tell me about free radicals, doctor: A review. *J Roy Soc Med* 82: 747-752, 1989.
- Fox KA, Saffitz JE y Corr PB. Pathophysiology of myocardial reperfusion. *Cardiol Clin* 5: 31-48, 1987.
- McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med* 312: 159-163, 1985.
- Charlat MI, O'Neill PG y Egan JM et al. Evidence for a pathogenetic role of xanthine oxidase in the "stunned" myocardium. *Am J Physiol* 252: H566-577, 1987.
- Hammond B y Hess ML. The oxygen free radical system: potential mediator of myocardial injury. *J Am Coll Cardiol* 6: 215-220, 1985.
- Mullane KM, Salmon JA y Kraemer R. Leukocyte-derived metabolites of arachidonic acid in ischemia induced myocardial injury. *Fed Proc* 46: 2.422-2.433, 1987.
- Pinckard RN, O'Rourke RA y Crawford MH et al. Complement localization and mediation of ischemic injury in baboon myocardium. *J Clin Invest* 66: 1.050-1.056, 1980.
- Simpson PJ y Lucchesi BR. Free radicals and myocardial and reperfusion injury. *J Lab Clin Med* 110: 13-30, 1987.
- Lucchesi BR. Role of neutrophils in ischemic heart disease: pathophysiologic role in myocardial ischemia and coronary artery reperfusion. *Cardiovasc Clin* 18: 35-48, 1987.
- Fridovich I. The biology of oxygen radicals. *Science* 201: 875-880, 1978.
- Aust SD, Morehouse LA y Thomas CE. Role of metals in oxygen radical reactions. *J Free Radic Biol Med* 1: 3-25, 1985.
- McCord JM. Oxygen-derived radicals: a link between reperfusion injury and inflammation. *Fed Proc* 46: 2.402-2.406, 1987.
- Maza ST y Frishman WH. Therapeutic options to minimize free radical damage and thrombogenicity in ischemic/reperfused myo-

- cardium. *Am Heart J* 114: 1.206-1.215, 1987.
32. Go LO, Murry CE y Richard UJ et al. Myocardial neutrophil accumulation during reperfusion after reversible or irreversible ischemic injury. *Am J Physiol* 225: 1.188-1.198, 1988.
33. Engler RL, Dahlgreis MD y Morris DD et al. Role of leukocytes in response to acute myocardial ischemia and reflow in dogs. *Am J Physiol* 251: H314-323, 1986.
34. Engler RL. Free radical and granulocyte-mediated injury during myocardial ischemia and reperfusion. *Am J Cardiol* 63: 19E-23E, 1989.
35. Singal PK, Beamish RE y Dhalla NS. Potential oxidative pathways of catecholamines in the formation of lipid peroxides and genesis of heart disease. *Adv Exp Med Biol* 161: 391-401, 1983.
36. Pallandi RT, Perry MA y Campbell TJ. Proarrhythmic effects of an oxygen-derived free radical generating system on action potentials recorded from guinea pig ventricular myocardium: a possible cause of reperfusion-induced arrhythmias. *Circ Res* 61: 50-54, 1987.
37. Bernier M, Hearse DJ y Manning AS. Reperfusion-induced arrhythmias and oxygen-derived free radicals. *Circ Res* 58: 331-340, 1986.
38. Schlafer M, Kane PF y Wiggins VY et al. Possible role for cytotoxic oxygen metabolites in the pathogenesis of cardiac ischemic injury. *Circulation* 66: 185, 1982.
39. Southorn P y Carth Powis D. Free radicals in medicine II. Involvement in human disease. *Mayo Clin Proc* 63: 390-408, 1988.
40. Cohen MV. Free radicals in ischemic and reperfusion myocardial injury. Is this the time for clinical trials? *Ann Int Med* 111: 918-931, 1989.
41. Schlafer M, Kane PF y Kirsh MM. Superoxide dismutase plus catalase enhances the efficacy of hypothermic cardioplegia to protect the globally ischemic, reperfused heart. *J Thorac Cardiovasc Surg* 83: 830-839, 1982.
42. Jolly SR, Kane WJ y Bailie MB et al. Canine myocardial reperfusion injury: its reduction by the combined administration of superoxide dismutase and catalase. *Circ Res* 54: 277-285, 1984.
43. Burton KP. Superoxide dismutase enhances recovery following myocardial ischemia. *Am J Physiol* 248: H637-643, 1985.
44. Weiss SW, Shea MJ y Driscoll EM et al. The independence effects of oxygen radical scavengers on canine infarct size: reduction by superoxide dismutase but not catalase. *J Mol Cell Cardiol* 17: 675-684, 1985.
45. Gallagher KP, Buda AJ y Pace D et al. Failure of superoxide dismutase and catalase to alter size of infarction in conscious dogs after 3 hours of occlusion followed by reperfusion injury. *Circulation* 73: 1.065-1.076, 1986.
46. Ambrosio G, Becker LC y Hutchins GM. Reduction in experimental infarct size by recombinant human superoxide dismutase: insights into the pathophysiology of reperfusion injury. *Circulation* 74: 1.424-1.433, 1986.
47. Ambrosio G, Weisfeldt ML y Jacobus WE. Evidence for a reversible oxygen radical-mediated component of reperfusion injury: reduction by recombinant human superoxide dismutase administered at the time of reflow. *Circulation* 75: 282-291, 1987.
48. Mitsos SE, Askew TE y Fantone JC et al. Protective effects of N-2-mercaptopyrionylglycine against myocardial reperfusion injury after neutrophil depletion in the dog: evidence for the role of intra-cellular-derived free radicals. *Circulation* 73: 1.077-1.086, 1986.
49. Menasche P, Grousset C y Gaudel Y et al. Enhancement of cardioplegic protection with free-radical scavenger peroxidase. *Circulation* 74: III 138-144, 1986.
50. Menasche P, Grousset C y Gaudel Y et al. A comparative study of free radical scavengers in cardioplegic solutions: improved protection with peroxidase. *J Thorac Cardiovasc Surg* 92: 264-271, 1986.
51. Steward JR, Blackwell WH y Crute SL et al. Inhibition of surgically induced ischemia/reperfusion injury by oxygen free radical scavengers. *J Thorac Cardiovasc Surg* 86: 262-272, 1983.
52. Magovern GJ Jr, Bolling SF y Casale AS et al. The mechanism of mannitol in reducing ischemic injury: hyperosmolarity or hydroxyl scavenger? *Circulation* 70: 15-91, 1984.
53. Owiel K, Ginsburg ME y Patti CJ et al. Preservation of myocardial function with mannitol reperfusion. *Circulation* 72: II 254-258, 1985.
54. Scott JA, Khaw BA y Locke E. The role of free radical mediated processes in oxygen-related damage in cultured murine myocardial cells. *Circ Res* 56: 72-77, 1985.
55. Werns SW, Shea MJ y Mitsos CE et al. Reduction of the size of infarction by allopurinol in the ischemia-reperfused canine heart. *Circulation* 73: 518-524, 1986.
56. Steward JR, Crute SL, Longlin V, Hess ML y Greenfield LJ. Prevention of free radical-induced myocardial reperfusion injury with allopurinol. *J Thorac Cardiovasc Surg* 90: 68-72, 1985.
57. Shatney CH, MacCarter DJ y Lillehei RC. Effects of allopurinol, propranolol and methylprednisolone on infarct size in experimental myocardial infarction. *Am J Cardiol* 37: 572-580, 1976.
58. Reimer KA y Jennings RB. Failure of the xanthine oxidase inhibitor allopurinol to limit infarct size after ischemia and reperfusion in dogs. *Circulation* 71: 1.069-1.075, 1985.
59. Grum CM, Ketai LH, Myers CL y Schlafer M. Purine efflux after cardiac ischemia: relevance to allopurinol cardioprotection. *Am J Physiol* 252: H368-373, 1987.
60. Chambers DJ, Braimsbridge MV y Hearse DJ. Free radicals and cardioplegia: allopurinol and oxypurinol reduce myocardial injury following ischemic arrest. *Ann Thorac Surg* 44: 291-297, 1987.
61. Laley RD, Ely SW, Berne RM y Mentzer RM Jr. Allopurinol enhanced adenine nucleotide repletion after myocardial ischemia in the isolated rat heart. *J Clin Invest* 81: 16-20, 1988.
62. Puett DW, Forman MB y Cater CV et al. Oxypurinol limits myocardial stunning but does not reduce infarct size after reperfusion. *Circulation* 76: 678-686, 1987.
63. Ambrosio G, Zweier JL, Jacobus WE, Weisfeldt ML y Flaherty JT. Improvement of postischemic myocardial function and metabolism induced by administration of deferoxamine at the time of reflow: the role of iron in the pathogenesis of reperfusion injury. *Circulation* 76: 906-915, 1987.
64. Romson JL, Hook BG, Kunkel SL, Abrams GD, Schork MA y Lucchesi BR. Reduction of the extent of ischemic myocardial injury by neutrophil depletion in the dog. *Circulation* 67: 1.016-1.023, 1983.
65. Chatelain P, Latour JG, Tran D, De Langeril M, Dupras G y Bowassa M. Neutrophil accumulation in experimental myocardial infarcts: Relation with extent of injury and effect of reperfusion. *Circulation* 75: 1.083-1.090, 1987.
66. Romson JL, Hook BG, Rigot VH, Schork MA, Swanson DP y Lucchesi BR. The effect of ibuprofen on accumulation of indium-111 labeled platelets and leukocytes in experimental myocardial infarction. *Circulation* 66: 1.002-1.011, 1982.
67. Simpson PJ, Mitsos SE y Ventura A et al. Prostacyclin protects ischemic reperfused myocardium in the dog by inhibition of neutrophil activation. *Am Heart J* 113: 129-137, 1987.
68. Bednar M, Smith B, Pinto A y Mullane KM. Nafazatrom-induced salvage of ischemic myocardium in anesthetized dogs is mediated through inhibition of neutrophil function. *Circ Res* 57: 131-141, 1985.
69. Jolly SR y Lucchesi BR. Effect of BW755C in an occlusion-reperfusion model of ischemic myocardial injury. *Am Heart J* 106: 8-13, 1983.
70. Simpson PJ, Todd RF, Fantone JC, Mickelson JK, Griffin JD y Lucchesi BR. Reduction of experimental canine myocardial reperfusion injury by a monoclonal antibody (antiMol, antiCollb), that inhibits leukocyte adhesion. *J Clin Invest* 81: 624-629, 1988.
71. Konishi T, Nakamura Y, Konishi T y Kawai C. Improvement in recovery of left ventricular function during reperfusion with coenzyme Q-10 in isolated working rat heart. *Cardiovasc Res* 19: 38-43, 1984.
72. Forman MB, Puett DW y Cater CV et al. Glutathione redox pathway and reperfusion injury: effect of N-acetylcysteine on infarct size and ventricular function. *Circulation* 78: 202-213, 1988.
73. Tamura Y, Chi LG y Driscoll EM Jr et al. Superoxide dismutase conjugated to polyethylene glycol provides sustained protection against myocardial ischemia/reperfusion injury in canine heart. *Circ Res* 63: 944-959, 1988.
74. Beckman JS, Minor RL Jr y Freeman BA. Augmentation of antioxidant enzymes in vascular endothelium. *J Free Radic Biol Med* 2: 359-365, 1986.

OXYGEN-DERIVED FREE RADICALS. ITS ROLE IN CARDIOLOGY

Summary

Oxygen-derived free radicals are highly reactive molecules characterized by the presence of an unpaired electron in one of its outer orbitals. They have been found responsible for some pathologic phenomena which in the field of cardiology, occurs during tissue reperfusion of a previously ischemic area. Ischemia predisposes an outburst in the production of these molecules upon the reintroduction of oxygen during reperfusion. Animal experimental models have been designed to reduce the damages induced by free radicals using various pharmacologic agents. It is probable that these agents may form a part of the conventional treatment of certain cardiac pathologies in the future.