

## CARDIOPATÍA ISQUÉMICA

# Comportamiento del malondialdehído y el óxido nítrico séricos en pacientes con infarto de miocardio

Valmore J. Bermúdez Pirela, Virginia Bracho, Fernando A. Bermúdez Arias, Mayerlim T. Medina Reyes, Maryluz Núñez Pacheco, Anilsa Amell de Díaz y Clímaco Cano Ponce

Cátedra de Bioquímica. Escuela de Medicina. Facultad de Medicina. Universidad de Zulia.  
Laboratorio de Investigaciones Endocrinometabólicas Dr. Félix Gómez. Hospital General del Sur  
Dr. Pedro Iturbe. Maracaibo. Venezuela.

**Introducción y objetivos.** El objetivo del presente trabajo fue determinar la utilidad del malondialdehído y el óxido nítrico como sensores del daño metabólico producido durante el desarrollo del infarto del miocardio.

**Métodos.** Se estudiaron 15 pacientes masculinos que consultaron la emergencia en el Hospital General del Sur de Maracaibo durante la etapa aguda y 30 días después de sufrir infarto del miocardio, en los cuales se determinaron el malondialdehído y el óxido nítrico séricos.

**Resultados.** Nuestros resultados demuestran un aumento altamente significativo en la concentración de malondialdehído durante la fase aguda del infarto del miocardio ( $1,87 \pm 0,29$  frente a  $45,47 \pm 8,67 \mu\text{M}$ ;  $p < 2,01 \times 10^{-5}$ ) que regresan, a los 30 días postinfarto, a cifras sin diferencia significativas cuando se las compara con individuos sanos de la misma edad ( $1,87 \pm 0,29$  frente a  $4,58 \pm 1,43 \mu\text{M}$ ). En cuanto al óxido nítrico se observó un aumento altamente significativo ( $41,25 \pm 3,59$  frente a  $164,63 \pm 12,7 \mu\text{M}$ ;  $p < 2,13 \times 10^{-10}$ ) durante la fase aguda del infarto del miocardio, que retorna a cifras sin diferencias significativas 30 días después del infarto ( $41,25 \pm 3,59$  frente a  $40,85 \pm 4,50 \mu\text{M}$ ) cuando se las compara con individuos sanos de la misma edad.

**Conclusiones.** Nuestros resultados demuestran que las concentraciones de malondialdehído y óxido nítrico aumentan significativamente durante la fase aguda del infarto del miocardio y disminuyen a valores normales durante su evolución, hecho que hace de estas sustancias indicadores potencialmente útiles para el pronóstico del infarto del miocardio.

**Palabras clave:** Antioxidantes. Infarto de miocardio. Isquemia. Radicales libres.

(Rev Esp Cardiol 2000; 53: 502-506)

Este trabajo ha sido posible gracias al financiamiento otorgado por el Consejo de desarrollo Científico y Humanístico (CONDES) de la Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela.

Correspondencia: Dr. V.J. Bermúdez Pirela.  
Urbanización Monte Bello. Calle M-N, avda. 11, 11-11.  
Maracaibo-Estado Zulia. Venezuela.  
Correo electrónico: vbermudez@hotmail.com

Recibido el 3 de marzo de 1999.  
Aceptado para su publicación el 15 de septiembre de 1999.

## Malondialdehyde and Nitric Oxide Behaviour in Patient with Myocardial Infarction

**Introduction and objectives.** The aim of this study was to determine the potential usefulness of malondialdehyde and nitric oxide as sensors of metabolic damage produced during acute coronary ischaemic events.

**Methods.** Serum malondialdehyde and nitric oxide levels were determined as thiobarbituric acid derivative and nitrites respectively in 15 male patients who were admitted to the emergency ward of the Hospital General del Sur de Maracaibo, because of acute stage of myocardial infarction.

**Results.** Our results show, upon follow-up and afterwards 30 days a highly significant increase in the malondialdehyde level during the acute phase of myocardial infarction ( $1.87 \pm 0.29$  vs  $45.47 \pm 8.67 \mu\text{M}$ ;  $p < 2.01 \times 10^{-5}$ ) that returns to normal levels 30 days after myocardial infarction when compared with healthy subjects of the same age ( $1.87 \pm 0.29$  vs  $4.58 \pm 1.43 \mu\text{M}$ ). As for nitric oxide, levels also increased significantly during the acute phase of myocardial infarction ( $41.25 \pm 3.59$  vs  $164.63 \pm 12.7$ ,  $p < 2.13 \times 10^{-10} \mu\text{M}$ ) and diminished significantly when compared with healthy adults of the same age 30 days after the acute event ( $41.25 \pm 3.59$  vs  $40.85 \pm 4.50 \mu\text{M}$ ).

**Conclusions.** Our results show that serum levels of malondialdehyde and nitric oxide increased significantly during acute infarction, coming back to normal levels 30 days after infarction, which suggest that both substances are potential tools to predict cardiac function recovery.

**Key words:** Antioxidants. Myocardial infarction. Ischaemia. Free radicals.

(Rev Esp Cardiol 2000; 53: 502-506)

## INTRODUCCIÓN

El fenómeno de isquemia/reperfusión miocárdica desencadena una serie de eventos metabólicos que pueden reflejar la magnitud del daño causado y, en consecuencia, la probabilidad de recuperación de la función cardíaca. El vaso involucrado, así como el tiempo de duración de la isquemia, son los principales

## ABREVIATURAS

MDA: malondialdehído.  
 ON: óxido nítrico.  
 RLO: radicales libres de oxígeno.  
 ONS: óxido nítrico sintetasa.  
 IM: infarto de miocardio.

determinantes de los cambios metabólicos. La magnitud del daño isquémico es menor cuando períodos cortos de isquemia preceden a períodos prolongados. Este fenómeno se conoce en la actualidad como «precondicionamiento cardíaco» y ha sido atribuido a la liberación de sustancias como la adenosina, que en estas circunstancias actúan como cardioprotectores al provocar vasodilatación y disminución del consumo de oxígeno por parte de la célula miocárdica<sup>1</sup>. No obstante, durante el proceso isquemia/reperusión (con o sin preconditionamiento) se producen cambios metabólicos que involucran la activación de la fosfolipasa A<sub>2</sub>, liberación de ácido araquidónico, cambios en la permeabilidad de la membrana celular con ingreso descontrolado de calcio al interior de la célula, generación de radicales libres de oxígeno (RLO) e infiltración de leucocitos, especialmente neutrófilos, en la zona lesionada<sup>2</sup>. Muchas sustancias involucradas directa o indirectamente en el daño tisular son liberadas al medio extracelular, dos de las cuales pueden ser medidas en el suero sanguíneo: el malondialdehído (MDA), producto directo de la acción de los RLO sobre los ácidos grasos poliinsaturados de la membrana celular, y el óxido nítrico (ON), producto de la acción de las isoenzimas de la óxido nítrico sintetasa (ONS) sobre la L-arginina. El origen fundamental del ON basal circulante es endotelial y ejerce un efecto regulador del tono vascular<sup>3</sup>; fallos en la producción endotelial de ON quedan enmarcados en el concepto de disfunción en-

dotelial, relacionada a su vez con enfermedades como hipertensión, envejecimiento y aterosclerosis<sup>4</sup>. Se ha demostrado también que una alta concentración de ON en sangre puede tener un efecto citoagresor, como el que se observa en el choque séptico, donde actúa como hipotensor.

El propósito de esta investigación fue determinar el comportamiento del MDA y el ON durante la fase aguda y postisquémica del infarto del miocardio (IM) como el primer paso de una serie de estudios destinados a utilizar el comportamiento del ON y el MDA como sensores metabólicos que permitan, junto a otros métodos diagnósticos, no sólo evaluar la magnitud del daño, sino también su pronóstico.

## MÉTODOS

## Selección de los pacientes

Fueron estudiados 15 pacientes que ingresaron en el servicio de emergencia del Hospital General del Sur de Maracaibo, siendo los signos y síntomas del infarto cardíaco el único criterio de inclusión, diagnóstico que fue confirmado mediante electrocardiografía y actividad enzimática en sangre. Los pacientes estudiados eran del sexo masculino, con una edad promedio de  $56,1 \pm 1,93$  años, que en el momento del ingreso recibían los siguientes diversos esquemas de tratamiento: cinco tomaban aspirina (AAS) más dinitrato de isosorbida; cinco recibían AAS más inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina I; cuatro recibían estatinas para tratamiento de hipercolesterolemia y uno recibía fibratos (tabla 1). Ninguno de los pacientes recibió fibrinólisis, ya que todos ingresaron 12 h después de establecido el dolor precordial. Durante la hospitalización todos los pacientes recibieron dinitrato de isosorbide. En el momento del ingreso a cada paciente le fue tomada una muestra de sangre venosa para la determinación de MDA y ON en el suero durante la fase aguda del IM. Treinta días después del evento agudo

TABLA 1. Características de los pacientes y grupo control

	Promedio de edad (años)	Sexo	Raza	N.º de pacientes	Tratamiento recibido antes del IM	Tratamiento intrahospitalario	Tratamiento ambulatorio
Grupo experimental	56,1 ± 1,93	Masculino	Mezclada	15	5 pacientes: AAS + dinitrato de isosorbide  5 pacientes: AAS + IECA 4 pacientes: estatinas 1 paciente: fibratos	Dinitrato de isosorbide en dosis de 10 mg cada 8 h	Dinitrato de isosorbide + AAS
Grupo control	51,87 ± 2,14	Masculino	Mezclada	15	—	—	—

AAS: aspirina; IM: infarto de miocardio; IECA: inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina.

les fue tomada una nueva muestra para determinar el MDA y el ON. También fueron medidas las mismas sustancias en 15 individuos sanos de sexo masculino del mismo rango de edad, siendo utilizados como criterios de exclusión antecedentes personales de diabetes, hipertensión arterial, obesidad, dislipemias y especialmente enfermedades cardiovasculares.

### Determinación de malondialdehído

La determinación de MDA se realizó a través de la formación de derivados del ácido tiobarbitúrico, que siguió los siguientes pasos: precipitación de las proteínas séricas, liberación de MDA unido a las proteínas, reacción con el ácido tiobarbitúrico, determinación de los complejos MDA-ácido tiobarbitúrico por análisis espectrofotométrico y, finalmente, eliminación de interferencia de otros aldehídos, como el furfuraldehído, para el cálculo final<sup>5</sup>.

### Determinación del óxido nítrico

El ON fue determinado a través de su producto de degradación, los nitritos, por medio del ensayo de diazotización (reacción de Greiss) previa reducción de los nitratos<sup>6</sup>. El suero se homogeneizó con HCl 2N, fue centrifugado a 6.000 g durante 10 min con ácido sulfanílico, añadiendo a continuación N-1-naftil-etilendiamina e incubándola durante 30 min más. La muestra completa fue tomada y la absorbancia fue medida a 548 nm en un espectrofotómetro Génesis 5 contra estándar. La sensibilidad del método es 1  $\mu$ M. Todos los resultados se expresaron como  $\mu$ M.

### Análisis estadístico

Los resultados fueron expresados como promedio  $\pm$  error estándar. Para determinar la significación estadística se utilizó la prueba de la t de Student y los valores de  $p < 0,05$  fueron considerados como estadísticamente significativos.

## RESULTADOS

### Comportamiento del malondialdehído

En el momento del ingreso, los pacientes con IM presentaron un incremento altamente significativo ( $p < 2,01 \times 10^{-5}$ ) de las concentraciones de MDA, al ser comparados con los valores obtenidos en los 15 individuos sanos usados como referencia ( $45,47 \pm 8,67$  frente a  $1,87 \pm 0,29 \mu$ M), como se observa en la figura 1. Treinta días después de la fase aguda del IM se determinó la concentración sérica de MDA, cuyo valor descendió a cifras no significativamente diferentes a las observadas en el grupo control ( $4,58 \pm 1,43$  frente a  $1,87 \pm 0,29 \mu$ M).

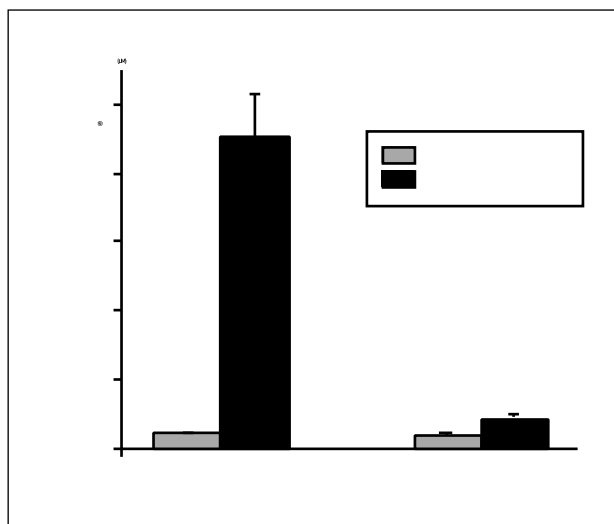


Fig. 1. Comportamiento del malondialdehído sérico durante la fase aguda y 30 días postinfarto de miocardio ( $n = 15$ ). \*  $p < 2,01 \times 10^{-5}$ ; NS: no significativo.

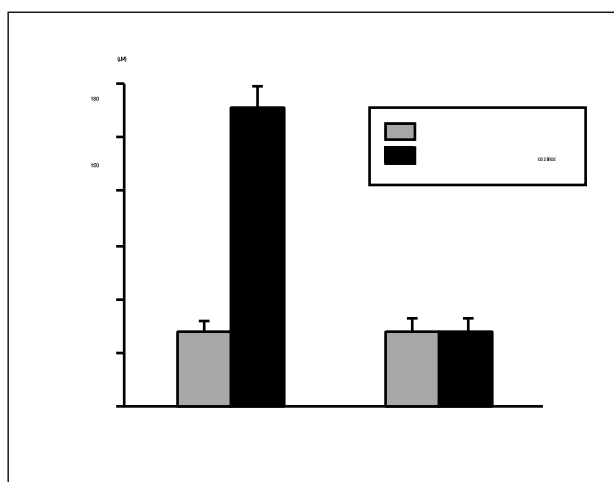


Fig. 2. Comportamiento del óxido nítrico sérico durante la fase aguda y 30 días postinfarto de miocardio ( $n = 15$ ). \*  $p < 2,13 \times 10^{-10}$ ; NS: no significativo.

### Comportamiento del óxido nítrico

En el momento del ingreso al servicio de emergencia, los pacientes con IM presentaron cifras de óxido nítrico significativamente elevadas al compararlas con los valores observados en el grupo control ( $165 \pm 12,7$  frente a  $41,25 \pm 3,59 \mu$ M, respectivamente) ( $p < 2,13 \times 10^{-10}$ ). Treinta días después de la fase aguda del IM, la concentración de óxido nítrico descendió hasta alcanzar cifras no significativamente diferentes del grupo control ( $40,85 \pm 4,50$  frente a  $41,25 \pm 3,59 \mu$ M) (fig. 2).

## DISCUSIÓN

La lesión tisular que acompaña al proceso isquemia/reperfusión miocárdica implica profundos cam-

bios metabólicos. Lo primero en ser afectado son las membranas biológicas. El daño se inicia con la activación de la fosfolipasa A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>), y liberación de ácido araquidónico, el cual toma la vía de la 12-lipo-oxigenasa dentro del miocito, generando abundantes cantidades de ácido 12-hidroperoxieicosatetraenoico, el cual puede convertirse, en presencia de metales de transición como el Fe<sup>+2</sup>, en una fuente importante de, RLO especialmente el radical libre hidroxilo (-OH)<sup>7,8</sup>. Éste, a su vez, oxida a los ácidos grasos poliinsaturados de las membranas biológicas y otras biomoléculas, generando MDA<sup>8,9</sup>, lo que es confirmado por nuestros resultados, ya que durante la fase aguda se observó un aumento altamente significativo de los valores de MDA al ser comparado con el grupo control. Durante la fase postisquémica, 30 días después del infarto, el MDA descendió a cifras sin significación estadística.

El ON aumentó también significativamente durante la fase aguda del infarto, para descender a los 30 días de la fase postinfarto. El ON es producido a partir de la arginina por la enzima óxido nítrico sintetasa (ONS), que se presenta en dos formas, la constitutiva y la forma inducible<sup>3</sup>. La primera está presente normalmente en el endotelio vascular y es responsable del valor basal del ON, el cual es producido por las células endoteliales. Esta sustancia cumple funciones vasodilatadoras al difundirse a las células del músculo liso de los vasos sanguíneos, regulando así la presión arterial<sup>2,4</sup>, como lo confirman publicaciones que apoyan la existencia de un incremento en la biosíntesis de ON en corazones sometidos a isquemia<sup>10,11</sup>. Cuando los tejidos son lesionados, como ocurre en el caso de la isquemia, el sitio de la lesión es infiltrado por neutrófilos, los cuales poseen ONS inducible, produciendo abundantes cantidades de ON, lo que puede causar citotoxicidad en lugar de citoprotección al inhibir las ferrosulfoproteínas de la cadena respiratoria<sup>12</sup>, disminuyendo la producción de energía ya precaria en los cardiomiocitos y, en consecuencia, la eficiencia mecánica del corazón<sup>13</sup>. Debido a la alta reactividad química que le confiere su naturaleza de radical libre, durante la reperfusión el ON reacciona con gran avidez con otro radical libre, el superóxido, generando el radical peroxinitrito que puede protonizarse y formar ácido peróxido nítrico<sup>14</sup>, que en su forma trans es altamente susceptible de ser atacado por metales de transición, generando más radical libre hidroxilo. Todo esto concluye en un mayor daño de las membranas biológicas y mayor generación de MDA, hecho que nos permite pensar que una generación exagerada de ON puede aumentar la peroxidación de las membranas y la producción de una cantidad mayor de aldehídos derivados de la reacción de terminación en la peroxidación de fosfolípidos de membrana.

Se han publicado estudios realizados en diversos modelos experimentales que afirman que la produc-

ción de ON puede incrementarse al administrar inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina I<sup>15</sup>, aspirina<sup>16</sup> y estatinas<sup>17</sup>. En nuestro estudio, diez pacientes estaban recibiendo tratamiento crónico con aspirina (100 mg/día), cinco recibían inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina I y sólo cuatro de ellos estaban recibiendo estatinas. Creemos que la consideración más importante desde el punto de vista de la influencia de la terapéutica sobre los resultados obtenidos en este estudio es la relacionada con la administración de nitratos, la cual es prescrita de manera rutinaria a razón de 10 mg por vía oral cada 8 h. El hecho de que el mecanismo de acción vasodilatadora de los nitratos sea a través de su conversión en ON puede llevar a pensar que éstos contribuyen en la elevación de los nitritos observada en el estudio. Sin embargo, un análisis más detallado pone de manifiesto que los pacientes estuvieron recibiendo el dinitrato de isosorbide tanto al inicio del cuadro como un mes después, por lo que sería lógico encontrar una concentración equivalente en los dos momentos si dicho aumento se debiese a la administración del fármaco. La administración de nitratos como terapia en la angina de pecho o durante el IM (incluso en el período postisquémico) no influye de manera significativa en la concentración de nitritos observada en nuestro estudio, ya que la administración de nitratos en forma de dinitrato de isosorbide o en cualesquiera de los análogos disponibles produce concentraciones plasmáticas efectivas máximas de 0,4 µM<sup>18</sup>. Si la concentración de nitritos observada en pacientes con IM es de 165 µM durante el episodio agudo y de 40,5 µM durante la fase postisquémica es evidente deducir que la concentración máxima efectiva de los nitritos representa un valor mínimo, sin interferencia alguna en la concentración de ON observada.

Por otro lado, el ON elevado durante el período isquemia/reperfusión puede interactuar con otros sistemas, en especial con sustancias antioxidantes como el glutatión, formando N-nitroso derivados. Esta reacción puede aparecer como un mecanismo defensivo benéfico, al disminuir la alta concentración de ON, pero puede resultar dañino al inhibir la fosforilación oxidativa en cardiomiocitos con un estatus energético precario. La disminución de la disponibilidad de glutatión reducido interfiere también con importantes mecanismos de recuperación de vitaminas antioxidantes, como las vitaminas C y E, durante la reperfusión del músculo cardíaco<sup>19</sup>. Algunas publicaciones refieren la mejoría de la función contráctil de corazones aislados sometidos a isquemia al administrar L-arginina, lo cual es un fenómeno previsible por falta de respuesta inflamatoria en las preparaciones *in vitro*, determinado por la ausencia de la ONS inducible y, por tanto, la no producción de grandes cantidades de ON<sup>3</sup>.

El comportamiento del MDA durante el proceso isquemia/reperfusión, sobre la base de nuestros resulta-

dos, puede ser considerado como un buen indicador metabólico de lesión miocárdica que, junto a otros medios diagnósticos, podrían dar una idea inicial del tamaño de la lesión, mientras que el ON producto especialmente de la infiltración de neutrófilos en el sitio de la lesión pudiera ser una buena herramienta en el pronóstico de la misma. Del mismo modo, estos parámetros, conjuntamente con otros indicadores como el electrocardiograma 12-D, podrían ser de gran utilidad en el diagnóstico, monitorización y pronóstico de cualquier condición que implique lesión tisular, como la cardiopatía isquémica crónica, insuficiencia cardíaca congestiva y la hipertrofia ventricular izquierda, aportando mayor claridad sobre el comportamiento y la evolución de estas enfermedades.

## CONCLUSIONES

Las concentraciones séricas de MDA y ON aumentan en forma altamente significativa durante la fase aguda del infarto del miocardio al ser comparados con los valores séricos de controles sanos del mismo rango de edad. Las concentraciones de MDA y ON descienden a concentraciones no significativamente diferentes a la del grupo control 30 días después de la fase aguda del infarto cardíaco.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Cano C, Malik KU. Adenosine receptor mediated alterations in prostacyclin production and cardiac function in the isolated rabbit heart. *J Pharmacol Exp Ther* 1992; 261: 660-668.
2. Kita Y, Ohkubo K, Hirasawa Y, Katayama Y, Ohno M, Nishino S et al. FR144420, a novel, slow, nitric oxide-releasing agent. *Eur J Pharmacol* 1995; 275: 125-130.
3. Kröncke KD, Fehsel K, Kolb-Bachofen V. Nitric oxide: cytotoxicity versus cytoprotection-how, why, when, and where? *Nitric Oxide* 1997; 1: 107-120.
4. López Farré A, Farré J, Sánchez de Miguel L, Romero J, González Fernández F, Casado S. Endothelial dysfunction: a global response. *Rev Esp Cardiol* 1998, 51 (Supl 6): 18-22.
5. Draper HH, Squires EJ, Mahmoodi H, Wu J, Agarwal S, Hadley M. A comparative evaluation of thiobarbituric acid methods for the determination of malondialdehyde in biological materials. *Free Radic Biol Med* 1993; 15: 353-363.
6. Archer S. Measurement of Nitric Oxide in biological models. *FASEB J* 1993; 7: 340-360.
7. Murphy E, Glasgow W, Fralix T, Steenbergen C. Role of lipoxygenase metabolites in ischemic preconditioning. *Circ Res* 1995; 76: 457-467.
8. Thomas MJ. The role free radicals and antioxidants: how do we know that they are working? *Crit Rev Food Sci Nutr* 1995; 35: 21-39.
9. Schöneich C, Dillinger U, von Bruchhausen F, Asmus KD. Oxidation of polyunsaturated fatty acids and lipids through thiyl and sulfonyl radicals: reaction kinetics, and influence of oxygen and structure of thiyl radicals. *Arch Biochem Biophys* 1992; 292: 456-467.
10. Node K, Kitakaze M, Kosaka H, Komamura K, Minamino T, Tada M et al. Roles of alpha 1-adrenoceptor activity in the release of nitric oxide during ischemia of the canine heart. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 212: 1133-1138.
11. Kugiyama K, Yasue H, Okumura K, Ogawa H, Fujimoto K, Nakao K et al. Nitric oxide activity is deficient in spasm arteries of patients with coronary spastic angina. *Circulation* 1996; 94: 266-271.
12. Mohri M, Egashira K, Tagawa T, Kuga T, Tagawa H, Harasawa Y et al. Basal release of nitric oxide is decreased in the coronary circulation in patients with heart failure. *Hypertension* 1997; 30: 50-56.
13. Dusting GJ. Nitric oxide in coronary artery disease: roles in atherosclerosis myocardial reperfusion and heart failure. *EXS* 1996; 76: 33-55.
14. Squadrito G, Pryor WA. The formation of peroxynitrite in vivo from nitric oxide and superoxide. *Chem Biol Interact* 1995; 96: 203-206.
15. Zang X, Xie YW, Nasjletti A, Xu X, Wolin MS, Hintze TH. ACE inhibitors promote nitric oxide accumulation to modulate myocardial oxygen consumption. *Circulation* 1997; 95: 176-182.
16. López Farré A, Farré J, Sánchez de Miguel L, Romero J, Gómez J, Rico L et al. Trombosis y enfermedad coronaria: neutrófilos, óxido nítrico y aspirina. *Rev Esp Cardiol* 1998; 51: 171-177.
17. Hernández Perera O, Pérez Sala D, Navarro Antolín J, Sánchez Pacuala R, Hernández G, Díaz C et al. Effects of the 3-hydroxy-3methylglutaryl-CoA reductase inhibitors, atorvastatin and simvastatin, on the expression of endothelial nitric oxide synthase in vascular endothelial cells. *J Clin Inv* 1998; 101: 2711-2719.
18. Fung HL. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of organic nitrates. *Am J Cardiol* 1987; 60: 4H-9H.
19. Basoglu M, Yildirgan I, Akçay F, Kiziltunç A, Kavak I, Oren D. Glutathione and nitric oxide concentrations in glutamine-infused rabbits with intestinal ischaemia/reperfusion. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1997; 35: 415-419.