

PROPIEDADES ANTIOXIDANTES DEL ÓXIDO NITRICO EN LA ATEROSCLEROSIS

Columnista Experto de SIIC
Dr. Homero Rubbo



Director de Equipo de Investigación en Bioquímica de las Especies Activas del Oxígeno y Nitrógeno en la Aterosclerosis, Profesor Asociado de Bioquímica, Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

Otro trabajo publicado: Rubbo H, Radi R, Anselmi D, Kirk M, Barnes S, Eiserich J and Freeman BA: «Nitric oxide reaction with lipid peroxy radicals spares alpha-tocopherol during lipid peroxidation: greater oxidant protection from the pair nitric oxide/alpha-tocopherol than alpha-tocopherol/ascorbate», *Journal of Biological Chemistry* 275:10812-10818, 2000

Montevideo, Uruguay. (**especial para SIIC**)

El óxido nítrico (*NO) representa el principal antioxidante endógeno capaz de inhibir la lipoperoxidación en el núcleo hidrofóbico de la partícula de lipoproteína de baja densidad (LDL), carente de antioxidantes en concentraciones significativas.

RESUMEN

La hipótesis de la modificación oxidativa plantea que la lipoproteína de baja densidad (LDL) modificada oxidativamente es captada por los receptores scavenger de los monocitos/macrófagos y de las células musculares lisas en la íntima de las arterias, determinando la formación de células espumosas, componentes principales de la placa de ateroma. El óxido nítrico (*NO) es un radical libre relativamente estable capaz de disminuir la formación de lesiones ateromatosas, no solo por su acción vasodilatadora sino también mediante un rol protector en la oxidación de la partícula de LDL. En efecto, el *NO constituye un potente inhibidor de la propagación de la lipoperoxidación y de la oxidación de la LDL, mediante reacciones de terminación del tipo radical-radical con radicales lipídicos. Nuestros estudios permiten postular que el *NO representa el principal antioxidante endógeno capaz de inhibir la lipoperoxidación en el núcleo hidrofóbico de la partícula de LDL, carente de antioxidantes en concentraciones significativas. Este rol antioxidante del *NO dependerá de sus concentraciones relativas a nivel de la lesión aterosclerótica con respecto a las especies activas del oxígeno tales como el radical superóxido, así como de su capacidad de difundir desde su sitio de formación hasta los sitios de acción.

Palabras clave: óxido nítrico, antioxidantes, oxidación de LDL, lipoperoxidación, radicales libres.

ABSTRACT

Atherosclerosis is one of the most common diseases and the principal cause of death in western civilization. The pathogenesis of this disease can be explained on the basis of the "oxidative-modification hypothesis", which proposes that low-density lipoprotein (LDL) oxidation represents a key early event. Nitric oxide (*NO) regulates critical lipoprotein oxidation events, by a) contributing to the formation of more potent secondary oxidants from superoxide (i.e. peroxynitrite) and b) its antioxidant properties through termination reactions with lipid radicals to possibly less reactive secondary nitrogen-containing products. Relative rates of production and steady state concentrations of superoxide and *NO and cellular sites of production will profoundly influence the expression of differential oxidant injury-enhancing and protective effects of *NO. Full understanding of the physiological roles of *NO, coupled with detailed insight into *NO regulation of oxygen radical-dependent reactions, will yield a more rational basis for intervention strategies directed towards oxidant-dependent atherogenic processes.

Key words: nitric oxide, antioxidants, LDL oxidation, lipoperoxidation, free radicals.

La aterosclerosis es la causa principal de morbimortalidad en la población occidental.

Actualmente se considera que un evento clave para el desarrollo de una placa de ateroma in vivo es la oxidación de la LDL a través de mecanismos que involucran cadenas de reacción de radicales libres, que afectan tanto a la porción

proteica como lipídica de la lipoproteína dotándola de características proaterogénicas. Las modificaciones postsecreción de la estructura de las lipoproteínas afectan significativamente su aterogenicidad y, en este contexto, las modificaciones oxidativas son probablemente las más importantes, constituyendo un evento crítico en el proceso aterogénico. La hipótesis de la modificación oxidativa plantea que la LDL modificada oxidativamente (LDL oxidada, ox-LDL) pero no la LDL nativa (sin modificar) es captada por los receptores scavenger de los monocitos/macrófagos y de las células musculares lisas en la íntima de las arterias.

En contraste con la captación de la LDL nativa por el receptor apoB/E en los macrófagos y otras células nucleadas, la captación de las LDL oxidadas por la vía del receptor scavenger de los macrófagos y células musculares lisas no está sujeta a regulación por retroalimentación negativa y por lo tanto es un proceso que provoca la captación masiva de colesterol y sus productos de oxidación, determinando la transformación de estas células en las denominadas células espumosas (células cargadas de lípidos), componentes principales de la placa de ateroma [1-5]. La LDL oxidada y sus constituyentes lipídicos también alteran la producción endotelial y la biodisponibilidad de óxido nítrico (*NO), que se manifiesta como una alteración de la vasorrelajación dependiente del endotelio, y es además capaz de inhibir la óxido nítrico sintetasa inducible (iNOS) en macrófagos, neutrófilos y plaquetas [6-8].

Si bien la oxidación de la LDL puede ser desencadenada *in vitro* por múltiples oxidantes, resulta difícil definir cuáles son los mecanismos de oxidación de la lipoproteína de relevancia fisiológica. Existen evidencias de que la oxidación de la LDL podría ser desencadenada tanto en la circulación como en la propia pared arterial, donde la LDL es parcialmente retenida mediante interacciones con los proteoglicanos y otros componentes de la matriz extracelular. Sin embargo, es más probable que ocurra en la propia pared arterial ya que estaría menos protegida por el menor contenido de antioxidantes a este nivel con respecto al plasma [9]. Los posibles mecanismos desencadenantes de la oxidación de la LDL a nivel de la pared arterial incluyen la presencia de iones metálicos redox activos (cobre, hierro), enzimas como lipooxigenasa y mieloperoxidasa, las propias células vasculares locales (en particular los macrófagos y otros leucocitos) y las especies reactivas del oxígeno y nitrógeno [10].

Existen diversos antioxidantes como componentes naturales de la partícula de LDL. El principal es el alfa-tocoferol, uno de los compuestos con actividad de vitamina E. Su concentración promedio en individuos sanos no suplementados es de aproximadamente 11.6 nmol/mg proteína, que equivale a 6 moléculas de vitamina E por partícula de LDL.

Los demás antioxidantes (gamma-tocoferol, carotenoides y ubiquinol-10) están presentes pero en menor cantidad [11].

OXIDO NITRICO, UN RADICAL CON PROPIEDADES ANTIATEROGENICAS

El *NO, anteriormente descrito como el Factor de Relajación Derivado del Endotelio (EDRF) y por el cual se otorgó el Premio Nobel de Medicina 1998, es un radical libre relativamente estable que tiene un rol central en la regulación del tono vasomotor y una amplia variedad de otros efectos biológicos [12,13]. En los últimos años se ha incrementado considerablemente el número de observaciones que indican que el *NO disminuye la formación de lesiones ateroscleróticas, no solo por su acción vasodilatadora sino también mediante un rol protector en la oxidación de la partícula de LDL [14-16]. Estudios previos de nuestro laboratorio [17-22] sugieren que el *NO constituye un potente inhibidor de la propagación de la lipoperoxidación y de la oxidación de la LDL, mediante reacciones de terminación del tipo radical-radical, limitadas por difusión, con especies citotóxicas tales como los radicales peroxilo (LOO^* , $k = 1-3 \times 10^9 M^{-1}s^{-1}$), con la formación concomitante de nitrolípidos (LNO_2) [23].

Del análisis de la estructura de la LDL surge como evidente la ausencia de mecanismos antioxidantes potentes en el core hidrofóbico de la partícula, uno de los sitios principales de formación de los productos de la lipoperoxidación. *Nuestros estudios nos permiten postular que el *NO representa el principal antioxidante endógeno capaz de difundir hacia el core hidrofóbico de la partícula de LDL [24], protegiendo los componentes lipídicos y proteico de la LDL contra las modificaciones oxidativas involucradas en las etapas tempranas del proceso aterogénico.* Este rol protector del *NO incluye mecanismos de cooperatividad con otros antioxidantes lipofílicos presentes en la partícula de LDL (carotenoides, vitamina E, ubiquinoles), los que a su vez son protegidos por el *NO de la degradación oxidativa (figura 1).

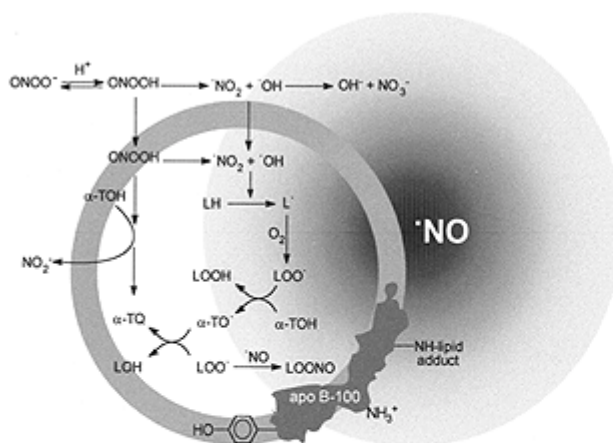


Figura 1. Difusión de *NO en la LDL y mecanismos de acción antioxidante. El peroxinitrito anión (ONOO⁻) se protona a ácido peroxinitroso (ONOOH), el cual puede difundir a la partícula de LDL y dar por homólisis radicales hidroxilo (·OH) y dióxido de nitrógeno (·NO₂), capaces de iniciar procesos de lipoperoxidación. En la iniciación, estos radicales abstraen un átomo de hidrógeno a un ácido graso insaturado o éster de colesterol de la LDL (LH) formando radicales lipídicos (L·) que en presencia de oxígeno propagan la lipoperoxidación mediante la formación de radicales peróxido (LOO·). En la fase de terminación, los radicales peróxido son reducidos a hidroperóxidos (LOOH) por el alfa-tocoferol (α-TOH), el que resulta oxidado a radical alfa-tocoferoxilo (α-TO·) y alfa-tocoferilquinona (α-TQ) por mecanismos de uno y dos

electrones, respectivamente. La lipoperoxidación lleva además a la formación de aductos lipoproteicos por reacción de radicales lipídicos con grupos amino libres de la apo B-100 (NH-lipid adduct), siendo reconocidos por los receptores scavenger en etapas tempranas del proceso aterogénico. El *NO cumple un rol antioxidante mediante su capacidad de difusión al core hidrofóbico de la LDL y sus reacciones de terminación limitadas por difusión con radicales peróxido, protegiendo al alfa-tocoferol de la degradación oxidativa y previniendo la formación de aductos lipoproteicos.

Sin embargo, no debemos olvidar que en condiciones de estrés oxidativo y aumento de la producción de especies activas derivadas del oxígeno, el *NO es capaz de reaccionar con el radical superóxido ($k = 6 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$) formando el anión peroxinitrito (ONOO⁻), una especie reactiva del nitrógeno fuertemente nitrante y oxidante capaz de promover la oxidación de la LDL [18,25]. El efecto final antioxidante o prooxidante del *NO dependerá de las concentraciones relativas de este radical y del radical superóxido a nivel de la lesión aterosclerótica, así como de su capacidad de difundir desde su sitio de formación hasta los sitios de acción.

PERSPECTIVAS TERAPEUTICAS

Teniendo en cuenta resultados previos que sugieren que la oxidación de la LDL es inhibida por el *NO a través de reacciones de terminación de los procesos de lipoperoxidación, resulta de particular importancia determinar la capacidad de otros antioxidantes con diferentes mecanismos de acción (vitaminas C y E, miméticos de la superóxido dismutasa y/o atrapadores de peroxinitrito) para disminuir la oxidación de la LDL mediada por especies reactivas del oxígeno y nitrógeno que continuamente se están generando a nivel de la placa de ateroma. De esta manera, estos antioxidantes podrían contribuir a mejorar la disfunción endotelial y restaurar los niveles de *NO y sus múltiples funciones a nivel vascular. A modo de ejemplo, queremos destacar estudios clínicos recientes que muestran una asociación positiva entre la administración de ácido ascórbico y el mejoramiento de la vasodilatación dependiente del endotelio en pacientes con enfermedad coronaria angiográficamente detectable [26], hipercolesterolémicos [27] y fumadores crónicos [28], por mecanismos que probablemente involucren el aumento de la biodisponibilidad de *NO a nivel del lecho vascular debido a la estimulación de su síntesis o a la disminución de su degradación por reacción con especies activas del oxígeno (radicales superóxido o peróxido).

BIBLIOGRAFIA

1. Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE, Khoo JC, Witztum JL. Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N Engl J Med* 1989; 320:915-24.
2. Leake DS. Oxidised low density lipoproteins and atherogenesis. *Br Heart J* 1993; 69:476-8.
3. Westhuyzen J. The oxidation hypothesis of atherosclerosis: an update. *Ann Clin Lab Sci* 1997; 27:1-10.
4. Steinberg D, Witztum JL. Lipoproteins and atherogenesis. *Current concepts*. *Jama* 1990; 264:3047-52.
5. Witztum JL. Role of oxidised low density lipoprotein in atherogenesis. *Br Heart J* 1993; 69:S12-8.
6. Yang X, Cai B, Sciacca RR, Cannon PJ. Inhibition of inducible nitric oxide synthase in macrophages by oxidized low-density lipoproteins. *Circ Res* 1994; 74:318-28.
7. Mehta JL, Bryant JL, Jr., Mehta P. Reduction of nitric oxide synthase activity in human neutrophils by oxidized low-density lipoproteins. Reversal of the effect of oxidized low-density lipoproteins by high-density lipoproteins and L-arginine. *Biochem Pharmacol* 1995; 50:1181-5.
8. Chen LY, Mehta P, Mehta JL. Oxidized LDL decreases L-arginine uptake and nitric oxide synthase protein expression in human platelets: relevance of the effect of oxidized LDL on platelet function. *Circulation* 1996; 93:1740-6.
9. Palinski W, Rosenfeld ME, Yla-Herttuala S, et al. Low density lipoprotein undergoes oxidative modification in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989; 86:1372-6.
10. Heinecke JW. Mechanisms of oxidative damage of low density lipoprotein in human atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 1997; 8:268-74.
11. Esterbauer H, Gebicki J, Puhl H, Jurgens G. The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative

- modification of LDL. *Free Radic Biol Med* 1992; 13:341-90.
12. Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987; 327:524-6.
 13. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991; 43:109-42.
 14. Cooke JP, Tsao PS. Is NO an endogenous antiatherogenic molecule?. *Arterioscler Thromb* 1994; 14:653-5.
 15. Jessup W, Mohr D, Gieseck SP, Dean RT, Stocker R. The participation of nitric oxide in cell free- and its restriction of macrophage-mediated oxidation of low-density lipoprotein. *Biochim Biophys Acta* 1992; 1180:73-82.
 16. Hogg N, Kalyanaraman B, Joseph J, Struck A, Parthasarathy S. Inhibition of low-density lipoprotein oxidation by nitric oxide. Potential role in atherogenesis. *FEBS Lett* 1993; 334:170-4.
 17. Rubbo H, Parthasarathy S, Barnes S, Kirk M, Kalyanaraman B, Freeman BA. Nitric oxide inhibition of lipoxygenase-dependent liposome and low-density lipoprotein oxidation: termination of radical chain propagation reactions and formation of nitrogen-containing oxidized lipid derivatives. *Arch Biochem Biophys* 1995; 324:15-25.
 18. Trostchansky A, Batthyány C, Botti H, Radi R, Denicola A and Rubbo H. Formation of lipid-protein adducts in low-density lipoprotein by fluxes of peroxynitrite and its inhibition by nitric oxide. *Arch Biochem Biophys* 395, 225-232, 2001.
 19. Rubbo H, Radi R, Trujillo M, et al. Nitric oxide regulation of superoxide and peroxynitrite-dependent lipid peroxidation. Formation of novel nitrogen-containing oxidized lipid derivatives. *J Biol Chem* 1994; 269:26066-75.
 20. Rubbo H, Freeman BA. Nitric oxide regulation of lipid oxidation reactions: formation and analysis of nitrogen-containing oxidized lipid derivatives. *Methods Enzymol* 1996; 269:385-94.
 21. Rubbo H, Darley-Usmar V, Freeman BA. Nitric oxide regulation of tissue free radical injury. *Chem Res Toxicol* 1996; 9:809-20.
 22. Rubbo H, Radi R, Anselmi D, Kirk M, Barnes S, Eiserich J and Freeman BA. Nitric oxide reaction with lipid peroxyl radicals spares (-tocopherol during lipid peroxidation: greater oxidant protection from the pair nitric oxide/(-tocopherol than (-tocopherol/ascorbate. *J Biol Chem*, 275, 10812-10818, 2000.
 23. Lima E, Di Mascio P, Rubbo H and Abdalla D. Characterization of linoleic acid nitration in human blood plasma by mass spectrometry. *Biochemistry* (In press).
 24. Denicola A, Batthyány C, Lissi E, Freeman BA. Rubbo H and Radi R. Diffusion of nitric oxide into low density lipoprotein. *J Biol Chem* 277, 932-936, 2002.
 25. Radi R, Denicola A, Ferrer G, Alvarez B and Rubbo H. The biological chemistry of peroxynitrite. In: *NITRIC OXIDE Biology and Pathobiology*. L. Ignarro, ed., *Advances in Pharmacology*, 57-82, 2000.
 26. Levine GN, Frei B, Koulouris SN, Gerhard MD, Keane JF, Jr., Vita JA. Ascorbic acid reverses endothelial vasomotor dysfunction in patients with coronary artery disease. *Circulation* 1996; 93:1107-1112.
 27. Ting HH, Timimi FK, Haley EA, Roddy MA, Ganz P, Creager MA. Vitamin C improves endothelium-dependent vasodilation in forearm resistance vessels of humans with hypercholesterolemia. *Circulation* 1997; 95:2617-22.
 28. Weber C, Erl W, Weber K, Weber PC. Increased adhesiveness of isolated monocytes to endothelium is prevented by vitamin C intake in smokers. *Circulation* 1996; 93:1488-92.

ESTUDIO DE LA CAPTACIÓN Y WASHOUT DEL TALIO 201 EN PACIENTES CON SÍNDROME X



Columnista Experta de SIIC
Dra. Francisca Mulero Aniorte

Facultativo de Área Especialista en Medicina Nuclear, Servicio de Medicina Nuclear del Hospital Universitario «Virgen de la Arrixaca». Ctra. Madrid-Cartagena. El Palmar, Murcia, España

Otro trabajo publicado: Mulero Aniorte F: «Gammagrafía con MIBI-99mTc en el diagnóstico de la invasión ganglionar axilar del cáncer de mama», www.siicsalud.co.m/dato/dat029/02802000.htm

Murcia, España (**especial para SIIC**)

Los pacientes con dolor torácico y coronarias normales (síndrome X) tienen alteraciones de la perfusión miocárdica detectables mediante una técnica no invasiva tal como la gammagrafía con ^{201}Tl .

RESUMEN

El término síndrome X define a un grupo de pacientes que presentan síntomas de angor típico, prueba de esfuerzo positiva y coronarias normales en la coronariografía. El objetivo de este estudio es valorar los resultados de los estudios con talio 201 valorando los cortes tomográficos y el estudio del *washout* en personas con síndrome X.

Métodos. Se estudiaron 24 pacientes con SPECT- ^{201}Tl valorando la captación y el *washout*. Los pacientes fueron seleccionados sobre la base de la sospecha diagnóstica de síndrome X: todos ellos presentaban angor típico y prueba de esfuerzo positiva con coronarias normales.

Resultados. Encontramos defectos en el estudio gammagráfico con talio 201 en 3/24 (12.5%) pacientes y alteraciones en el *washout* en 22/24 (91.6%). Existe una reducción estadísticamente significativa ($p < 0.005$) de la captación del talio 201 y del *washout* en los pacientes con síndrome X respecto de un grupo control. Además, los pacientes con síndrome X presentaban mayor captación de ^{201}Tl en reposo que en esfuerzo al compararlos con el grupo control.

Conclusiones. El análisis visual de la gammagrafía cardíaca con ^{201}Tl tiene un valor limitado en la valoración de pacientes con síndrome X. El análisis del *washout* y la captación del talio puede proporcionar información adicional al clínico. Pacientes con dolor torácico y coronarias normales tienen alteraciones de la perfusión miocárdica detectables mediante una técnica no invasiva tal como la gammagrafía con ^{201}Tl .

Palabras clave: síndrome X, *washout* del talio 201, coronariografía normal.

ABSTRACT

Syndrome X defines a group of patients who present with typical exercise induced angina pectoris, positive exercise test and normal coronary arteriogram. The purpose of this study was to compare the results of Thallium-201 scan images and washout in patients with Syndrome X.

Methods. 24 patients with typical angina and normal arteriograms and 30 normal controls were studied with Thallium 201 SPET to evaluate uptake and washout.

Results. 201-Thallium perfusion defects were found in 3 out of 24 (12.5%) and washout defects in 22 out of 24 (91.6 %). There was a statistically significant reduction ($p < 0.05$) in thallium uptake and washout in patients with syndrome X compared to the control group. Moreover, patients with Syndrome X had a higher Thallium uptake at rest than during exercise compared to healthy subjects.

Conclusions. Visual analysis of Thallium-201 slices is of limited value in patients with syndrome X. Analysis of Thallium 201 washout provides additional information. Patients with chest pain and normal coronary arteries have abnormalities of myocardial perfusion that can be detected noninvasively with Thallium uptake and washout.

Key words: Syndrome X, Thallium 201 Washout, Normal coronary arteriogram.

INTRODUCCION

El termino síndrome X es utilizado para definir un tipo de patología de etiología desconocida, caracterizada por dolor torácico en pacientes con angor típico de esfuerzo y descenso del ST en la prueba de esfuerzo, con coronarias normales (1).

Los mecanismos de producción de este síndrome no están del todo clarificados. Se ha propuesto como hipótesis patogénicas de la isquemia miocárdica, una angina microvascular (2-6). En ausencia de obstrucción arteriosclerótica o espasmo epicárdico coronario demostrable, la reducción del flujo coronario asociado a disfunción microvascular puede ser la responsable de los síntomas y del descenso del ST en estos pacientes (7). Epstein y Cannon (8) han propuesto que la alteración del flujo coronario puede estar localizada en los pequeños vasos intramurales prearteriolas. Ha sido demostrado que los pacientes con síndrome X tienen una reducción en el flujo de reserva coronario (2).

La incidencia de aparición de defectos reversibles que pongan de manifiesto la reducción del flujo de reserva coronario en los estudios con Talio 201 es, en estos pacientes, inferior al 20% (2-3).

El flujo de reserva coronario está reducido en un sustancial número de pacientes con dolor torácico y coronarias normales (9,10). Esta afirmación ha sido demostrada mediante estudios con PET en los que los pacientes con síndrome X presentaban un elevado flujo miocárdico en reposo. Geltman y cols (9) sugieren que ésta es la causa de la reducción del flujo de reserva coronario, ya que estos pacientes debido a su elevado flujo en reposo ven reducida su capacidad de aumento de flujo coronario en respuesta al esfuerzo.

En este estudio nos planteamos la utilidad de la medida del *washout* del talio 201 como información adicional a la que nos ofrece el estudio de cortes y el mapa polar.

MATERIAL Y METODO

Pacientes

Se incluyen en el estudio 24 pacientes (20 mujeres y 4 hombres) de edades comprendidas entre los 50-65 años con síndrome X. El diagnóstico de síndrome X se basó en la presencia de angor típico de esfuerzo, depresión del ST en la prueba de esfuerzo convencional y coronarias normales angiográficamente. Los criterios de exclusión de pacientes fueron los siguientes: presencia de espasmo coronario, miocardiopatía congestiva, insuficiencia cardíaca congestiva, enfermedad valvular (incluido el prolapso mitral), HTA sistémica, hipertrofia ventricular izquierda y alteraciones de la conducción.

Controles

Se utilizó la base de datos de normalidad de nuestro hospital como grupo control con 30 pacientes (15 hombres y 15 mujeres con una edad media de 59 ± 8 años y un rango comprendido entre 35 y 69 años). En el grupo control no hubo ningún individuo que presentara síntomas o historia de enfermedad cardiovascular. Todos presentaron un examen cardiovascular normal, medida de presión arterial normal, prueba de esfuerzo normal en las doce derivaciones y ecocardiografía normal. Las características de la cámara gamma y el protocolo de adquisición fue similar tanto en los pacientes como en el grupo control.

La exploración con talio 201 fue realizada tras el estudio angiográfico en un plazo no superior a 2 meses. Se les realizó SPECT con 3 mCi de ^{201}Tl inyectado en el pico de máximo esfuerzo y tras 4 horas se obtuvieron imágenes de redistribución. El ejercicio se realizó usando el protocolo de Bruce sobre tapiz rodante. El esfuerzo fue limitado por los síntomas del paciente y se consideró que el descenso del ST mayor o igual a 1 mm que persiste durante 80 ms es una respuesta isquémica. Cuando los pacientes no desarrollaron síntomas, la prueba fue interrumpida al alcanzar los 4 mm de depresión del ST, presentarse una arritmia maligna o ante hipotensión inducida por el ejercicio. Cuando los pacientes no alcanzaron el 85% de la frecuencia cardíaca máxima, el esfuerzo fue considerado submáximo.

Las exploraciones fueron realizadas en una cámara gamma Elscint SP4 -HR equipada con un colimador de propósitos generales; con órbita circular, rango de giro 180° , matriz 64×64 y un tiempo por imagen de 20-25 segundos. La reconstrucción de las imágenes se realizó usando retroproyección y un filtro en rampa (Ramp-Hanning filter) con 0.75 -1 pixel de frecuencia de corte.

Se valoraron los cortes tomográficos y las imágenes del *washout* de forma independiente dividiendo cada área del ojo de buey en los territorios correspondientes a las tres arterias principales (10).

Posteriormente se cuantificó la captación de talio en esfuerzo y en reposo, comparándola con nuestra base de datos de normalidad. El *washout* fue calculado mediante la fórmula:

$$(\text{captación en esfuerzo} - \text{captación en reposo}) / \text{captación en esfuerzo}$$

Los niveles de esfuerzo, el total de la dosis de talio administrada y el tiempo transcurrido entre las 2 adquisiciones (esfuerzo y reposo) fue similar en los pacientes con síndrome X y en los controles. Algunos de estos parámetros están representados en la tabla 1.

TABLA I. **Datos clínicos.**

	Datos clínicos	Prueba de esfuerzo
	Depresión del ST (mm)	1.9 ± 0.6
Frecuencia cardíaca con depresión máxima del ST		135.2 ± 19.1
Tiempo a la depresión del ST		278.5 ± 182.2
Frecuencia cardíaca con depresión de 1 mm del ST		124.8 ± 19.1
Tiempo a la depresión de 1 mm del ST		261.2 ± 205.4
	Fc x TAS	26641 ± 4017
	METZs	7.2 ± 2.9
Post-Esfuerzo tiempo de recuperación del ST		160.0 ± 153.7
	TAS (mm Hg)	192.1 ± 21.7
	TAD (mm Hg)	89.6 ± 11.2

Valores: media ± desviación típica ($\bar{X} \pm DE$). **TAD**, tensión arterial diastólica.
Fc, frecuencia cardíaca lat/min. **METZ**, unidad de equivalentes metabólicos.
TAS, tensión arterial sistólica.

Análisis estadístico

Los datos han sido analizados de modo descriptivo, mediante el cálculo de medias y desviaciones típicas. Se utilizó el test de la t de Student, con la variante de comparación de medias con una media teórica, comprobando previamente que las variables seguían una distribución normal. Se consideró estadísticamente significativo un valor de $p < 0.05$.

RESULTADOS

En nuestro estudio, de los 24 pacientes estudiados 21 presentaron el estudio de cortes normal y solo 3 tuvieron defectos ligeros. El *washout* fue patológico en 21 de los 24 pacientes, en los que los cortes y el mapa polar fueron normales. En los pacientes con *washout* normal, el estudio de cortes y mapa polar no encontró defectos.

Las imágenes del *washout* ofrecen imágenes patológicas en el territorio de la arteria descendente anterior (DA) en 22 pacientes, en el de la coronaria derecha (CD) en 2 y en el de la circunfleja (Cx) en 2. Sólo en 4 pacientes se afectó más de un territorio, coincidiendo en todos ellos la afectación de DA y CD, no correspondiéndose dichos defectos en el *washout* con defectos en el estudio de cortes (tabla 2).

TABLA 2. Washout y captación de ²⁰¹Tl: datos de cuantificación.

Pacientes	SPECT ²⁰¹ Tl	Washout	Q estrés	Q redistribución	Q washout
ENM	Normal	CX	73.75	74.32	-0.77
FVM	Inferior	CD	77.96	82.3	-5.56
DCF	Normal	DA	84.24	85.07	-0.98
MCG	Normal	DA/CD	80.12	84.46	-5.41
MAF	Normal	DA/CX	87.75	92.51	-5.42
GRL	Normal	Normal	88.15	87.38	-0.87
JGP	Normal	DA	86.16	87.04	-1.02
MAP	Normal	DA	82.77	85.3	-3.05
MNG	Normal	CD/DA	85.39	85.34	0.058
FHB	Normal	DA	82.77	85.3	-3.05
BTN	Normal	DA	79.65	83.94	-5.38
ADF	Normal	Normal	88.33	89.37	-1.17
MMG	Normal	DA	86.33	90.62	-4.97
EGG	Normal	CD/CX	80.97	82.8	-2.26
MGN	Normal	DA	86.68	88.59	-2.2
PAM	Normal	DA	79.11	83.6	-5.6
DGP	Normal	DA	83.98	84.78	-0.9
PLS	Normal	DA	87.8	90.24	-2.77
JJV	Normal	CX	85.24	88.28	-3.56
DMA	Normal	CD	89.73	91.47	-1.93
CSA	Normal	DA	87.90	91.03	-3.5
AHL	Apex	DA	82.8	89.6	-8.21
RES	Septo	DA	85.95	88.43	-2.88
IFZ	Normal	DA	86.52	88.75	-2.57

Q, captación de ²⁰¹Tl (media de cuentas).

Los pacientes con síndrome X presentan reducción significativa de la captación de talio 201 en el pico de ejercicio en comparación con los controles (83.72 ± 4 vs. 111.99 ± 2 ; $p < 0.05$). Los resultados de la redistribución muestran una captación mayor que tras el esfuerzo, siendo sus valores, a su vez, inferiores a los encontrados en los controles (86.22 ± 3.6 vs. 108.13 ± 2 ; $p < 0.05$). El washout está claramente disminuido en los sujetos con síndrome X respecto de los sujetos normales (-3.11 vs. 3.44 ; $p < 0.05$) (tabla 3).

TABLA 3. Datos de pacientes con síndrome X y controles.

SPECT ²⁰¹ Tl	Síndrome X	Controles	Valor p *
Media cuentas esfuerzo	83.72 ± 4	111.99 ± 2	< 0.005
Media cuentas reposo	86.22 ± 3.6	108.13 ± 2	< 0.005
Washout	-3.11 ± 2.27	3.44 ± 1.3	< 0.005

Valores: media \pm desviación típica ($X \pm DE$). * Análisis estadístico (test de la t de Student) síndrome X versus controles.

DISCUSION

Se ha sugerido que una anomalía en la vasodilatación de la microvasculatura (11) causa una reducción del flujo de reserva coronario en pacientes con síndrome X (12,13). Tales anomalías funcionales de los pequeños vasos pueden ser generalizadas (14) o localizadas, en dependencia de la distribución de la alteración (7,15). Según Rosano y cols (2), la alteración regional del flujo sanguíneo coronario puede resultar en una reducción de la perfusión miocárdica en esfuerzo con arterias coronarias normales. Esto da como resultado defectos de perfusión reversibles, visibles en el SPECT con ²⁰¹Tl convencional. Defectos pequeños o de distribución dispersa pueden no ser detectados por la gammagrafía de perfusión miocárdica a causa de los límites de resolución espacial de la técnica, apareciendo imágenes normales en la gammagrafía de perfusión.

La reducción en la captación de ^{201}Tl puede ser también el resultado de una alteración funcional de la bomba Na-K. Se ha sugerido que alteraciones de la bomba de Na-K pueden ser responsables de la alteración electrocardiográfica en la prueba de esfuerzo y del dolor torácico en pacientes con síndrome X (16,17). Debido a que la captación del ^{201}Tl por el miocardio es parcialmente dependiente de la bomba de Na-K, una reducción global de la captación de ^{201}Tl puede ser consecuencia de una anomalía funcional de ella, en ausencia de reducción del flujo de reserva coronario.

Como ya habían publicado anteriormente Rosano y cols (2), el presente estudio muestra como los pacientes con síndrome X no pueden ser diagnosticados en un alto porcentaje únicamente con la interpretación visual de la gammagrafía de perfusión miocárdica (18). Ello se debe a que la mayoría de estos pacientes presentan un estudio de cortes normal. Puede existir una reducción de la captación del ^{201}Tl sin que se evidencie un defecto de perfusión en las imágenes (19).

Todos nuestros pacientes, además de tener una clara disminución de la captación del talio en esfuerzo, presentan un *washout* disminuido llegando a ser en alguno de ellos negativo. Por otro lado, la captación de ^{201}Tl de los pacientes con síndrome X fue mayor en reposo que en esfuerzo, lo que se ha observado también en estudios con PET (11). En ellos los pacientes con síndrome X tienen un incremento de la perfusión en reposo, lo que condiciona disminución del flujo de reserva coronario y disminución de la perfusión máxima en esfuerzo. Este dato es sugestivo de una reducción del flujo de reserva coronaria en dichos pacientes.

En pacientes con síndrome X, diferentes estudios ponen de manifiesto alteraciones en la captación del ^{201}Tl , aunque sin identificar claramente cuál es el mecanismo que produce dicha alteración y basan sus hallazgos en la presencia de una perfusión heterogénea, lo que provoca las anomalías descritas en la captación de ^{201}Tl , sobre todo en esfuerzo (20-22).

Es significativo que la alteración de las imágenes del *washout* estuviera mayoritariamente localizada en el territorio de la DA, territorio normal en el estudio de cortes, lo que nos induce a pensar que la alteración en la captación del ^{201}Tl , en nuestra serie, no es generalizada sino localizada.

CONCLUSION

El análisis visual de los cortes tomográficos de ^{201}Tl tiene un valor limitado en la evaluación de pacientes con síndrome X. Tal como lo presentamos en nuestro estudio, los cortes pueden ser normales en estos pacientes y su análisis debe complementarse con el estudio del *washout* y la cuantificación de la captación del ^{201}Tl en esfuerzo para una valoración más precisa. El análisis del *washout* y la captación del talio pueden proporcionar información adicional al clínico.

Pacientes con dolor torácico y coronarias normales tienen alteraciones de la perfusión miocárdica detectables mediante una técnica no invasiva como es la gammagrafía con ^{201}Tl .

BIBLIOGRAFÍA

1. Botker HE, Sonne HS, Sorensen KE. Frequency of systemic microvascular dysfunction in syndrome X and in variant angina. *Am J Cardiol* 1996;78 (2):182-6.
2. Rosano GMC, Peters NS, Kaski JC et al. Abnormal uptake and washout of Thallium-201 in patients with Syndrome X and Normal- Appearing Scans. *Am J Cardiol* 1995; 75: 400-402.
3. Quyyumi A, Crake T, Wright C, et al. The role of ambulatory ST segment monitoring in the diagnosis of coronary artery disease: comparison with exercise testing and Thallium scintigraphy. *Eur Heart J* 1987;8:124-129.
4. Berger BC, Abramovitz R, Park CH et al. Abnormal Thallium-201 scans in patients with chest pain and angiographically normal coronary arteries. *Am J Cardiol* 1983;52:365-370.
5. Bellamy MF, Goodfellow J, Tweddel AC et al. Syndrome X and endothelial dysfunction. *Cardiovasc Res* 1998;40 (2):410-7.
6. Newby DE, Flint LL, Fox KA et al. Reduced responsiveness to endothelin-1 in peripheral resistance vessels of patients with syndrome X. *J Am Coll Cardiol* 1998;31(7):1585-90
7. Maseri A, Crea F, Kaski JC, Crake T. Mechanisms of angina pectoris in Syndrome X. *J Am Coll Cardiol* 1991;17:499-506.
8. Cannon RO, Epstein SE. Microvascular angina as cause of chest pain with angiographically normal coronary arteries. *Am J Cardiol* 1988;61:1338- 43.
9. Geltman EM, Henes G, Senneff Mj, et al. Increased myocardial perfusion at rest and diminished perfusion reserve in patients with angina and angiographically normal coronary arteries. *JACC* 1990;16:586-95.
10. García V, Van Train K, Maddahi J et al. Quantification of rotational thallium 201 myocardial tomography. *J Nucl Med* 1985;26:17-26.

11. Czernin J, Schelbert HR. Non-invasive quantification of myocardial blood flow reserve using dynamic positron emission tomography. *Wien Klin Wochenschr* 1994;15:478-486.
12. Romeo F, Rosano GMC, Martuscelli E et al. Long -term follow-up of patients initially diagnosed with Syndrome X. *Am J Cardiol* 1993;71:669- 673.
13. Epstein SE, Cannon RO. Site of increased resistance to coronary flow in patients with angina pectoris and normal coronary arteries. *J Am Coll Cardiol* 1986;8:459-61
14. Buus Nh, Bottcher M, Bottker HE, et al. Reduced vasodilator capacity in Syndrome X related to structure and function of resistance arteries. *Am J Cardiol* 1999;83 (2):149-54.
15. Rosano GMC, Crea F. Chest pain and miocardial ischemia in Syndrome X. *Coron Art Dis* 1992;3:599-604.
16. Poole -Wilson PA. Potassium and the heart. *Clin Endocrinol Metab* 1984;13:249-268.
17. Poole-Wilson PA, Crake T. The enigma of Syndrome X. *Int J Microcirc Clin Exp* 1989;8:423-432.
18. Tweddel AC, Martin W, Hutton I. Thallium scans in Syndrome X. *Br Heart J* 1992;68:48-50.
19. Kataoka T, Shih WJ. False positive myocardial perfusion scintigraphy in Syndrome X. *Sem Nucl Med* 1997;27:186-9
20. Fragasso G, Rossetti E, Dosio F, et al. High prevalence of the thallium- 201 reserve redistribution phenomenon in patients with syndrome X. *Eur Heart J* 1996;17:1482-7
21. Inoue T, Fugito T, Hoshi K, et al. Relationship of Tl201 clearance on exercise stress myocardial scintigraphy to coronary flow reserve in patients with coronary artery disease. *Coron Artery Dis* 1996;7:257-63.
22. Kaski JC. Cardiac imaging in Syndrome X: the problem of reverse redistribution. *Eur Heart J* 1996;17:1459-61.

LA INFECCION POR CLAMIDIA ES FRECUENTE ENTRE LOS PACIENTES CON ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR



Dra. Guadalupe de los Angeles García Elorriaga

Investigadora Asociada. Unidad de Investigación en Inmunología e Infectología, Centro Médico Nacional "La Raza", Instituto Mexicano del Seguro Social.

Ultimo trabajo publicado: *Asociación entre enfermedad cardiovascular y anticuerpos contra Chlamydia pneumoniae*, Salud Pública de México 44 (3):243-246, 2002.

Ciudad de México, México (**especial para SIIC**)

La **doctora Guadalupe García Elorriaga** presentó en un diálogo con **SIIC** los resultados de su estudio, en el cual observó una relación entre la enfermedad cardiovascular y la infección por *Chlamydia pneumoniae* en un grupo de pacientes mexicanos. Según la investigadora, los datos obtenidos hasta el momento indican que **"el tratamiento con nuevos antibióticos macrólidos puede mejorar el resultado de los eventos isquémicos"**.

El objetivo de esta investigación, explicó la **doctora García Elorriaga**, fue evaluar la asociación entre la enfermedad cardiovascular y la presencia de anticuerpos contra *Chlamydia pneumoniae* en la población mexicana, relación que ya había sido observada en otros países.

Para ello, se estudió a un grupo de 70 pacientes hospitalizados con cuadros cardiovasculares, mayores de 30 años y de ambos sexos. Los resultados obtenidos en este grupo se compararon con los de 140 controles sanos, de similar edad y sexo.

El 94.3% de los pacientes presentó anticuerpos de tipo IgG contra *C. pneumoniae*, informó la experta, en comparación con el 37% de los controles.

La **doctora García Elorriaga** ha publicado con anterioridad trabajos de investigación en la revista Salud Pública de México.

SIIC: Doctora García Elorriaga, ¿podría describir la técnica utilizada para la detección de anticuerpos en este estudio?

Dra. Guadalupe García Elorriaga: El análisis de los anticuerpos contra *C. pneumoniae* se realizó con una técnica de MIF (microinmunofluorescencia) indirecta. Los sueros se diluyeron al doble en PBS, pH 7.4, desde 1:16 hasta 1:512, para anticuerpos de tipo IgG, y 1:16 para IgM, sobre antígeno en laminillas o placas de 21 pozos conteniendo preparaciones de antígenos elementales de *C. psittaci*, *C. pneumoniae* y *C. trachomatis* en cada pozo. Se agregaron 10 μ L de cada dilución en los pozos de reacción, para IgM se incubó a 37°C durante 180 minutos, y para IgG a 37°C durante 30 minutos, se lavó y se agregaron los respectivos conjugados con isotiocianato de fluoresceína para evidenciar los anticuerpos, utilizándose como colorante de contraste el azul de Evans.

Las laminillas se leyeron en un microscopio UV Olympus con una lente de inmersión de 100X y una lente ocular de 10X (aumento total 1000X). Todas las laminillas se leyeron por el mismo investigador, quien desconocía la referencia de los sueros o cualquier característica clínica de los pacientes. El título final hacia cada antígeno se determinó como la dilución del suero más alta que demostró fluorescencia definida. El título de anticuerpos se expresó como el recíproco de la dilución del suero. El recíproco del título de IgG de valor superior a 16 se usó como el límite inferior para serología positiva. También se ensayó la reacción cruzada con *C.*

psittaci y *C. trachomatis*, en este caso, los títulos de IgG de 64 o mayores se consideraron como positivos.

SIIC: El 94% de los pacientes presentaba IgG contra C. pneumoniae. ¿Qué porcentaje presentaba anticuerpos de tipo IgM? ¿Qué conclusiones puede sacar a partir de este dato?

G.G.E.: Ningún paciente presentó anticuerpos de tipo IgM.

Todas las especies de clamidia tienen una tendencia a causar infecciones crónicas, y se presenta con frecuencia la recurrencia de la enfermedad a pesar del tratamiento con antibióticos. Las infecciones primarias causadas por *C. pneumoniae* se caracterizan por una respuesta predominantemente de tipo IgM, una respuesta tardía de IgG y una respuesta débil o ausente de IgA en la prueba de MIF, mientras que las infecciones secundarias se caracterizan por una ausencia de respuesta IgM y respuestas rápidas de IgG e IgA.

Nuestros pacientes presentaron títulos positivos para IgG y no tuvieron anticuerpos IgM en la prueba de MIF. Estos hallazgos sugieren una infección crónica por *C. pneumoniae* en los tres grupos de pacientes: con angina, con cardiopatía isquémica y con infarto agudo de miocardio (IAM).

SIIC: ¿Qué resultados se observaron en las determinaciones de anticuerpos contra otras especies del género *Chlamydia*?

G.G.E.: Ninguno de los pacientes presentó anticuerpos contra otra especie del género *Chlamydia*. Solamente un sujeto sano presentó anticuerpos contra *C. psittaci* y 6 sujetos sanos, de 140, presentaron anticuerpos contra *C. trachomatis*.

Chlamydia spp se ha reconocido como un patógeno potencial cardiovascular, y se ha implicado en varias enfermedades cardíacas valvulares. Existen informes sobre miocarditis asociada con infecciones por *C. trachomatis* y *C. psittaci*, también se ha demostrado endocarditis en infecciones causadas por ambas especies, y se han descrito complicaciones embólicas causadas por *C. psittaci*.

En nuestra población, la frecuencia de anticuerpos contra *C. trachomatis* resultó ser baja, ya que la mayor parte de los sujetos no fueron sexualmente activos. Aparentemente la asociación con la enfermedad cardiovascular de la población en estudio existía únicamente para *C. pneumoniae*.

SIIC: ¿Qué mecanismo subyace a la asociación entre esta bacteria y el riesgo de enfermedad cardiovascular?

G.G.E.: Algunos posibles mecanismos por los cuales una infección crónica por *C.*

pneumoniae podría participar en el proceso de arteriosclerosis y de infarto agudo de miocardio incluyen la infección persistente y dependiente de hierro en macrófagos pulmonares con muerte celular y liberación de componentes dañinos, principalmente lipopolisacárido (LPS), sustancias oxidativas y cuerpos elementales infecciosos, directamente en el torrente sanguíneo.

Otros mecanismos posibles son la inducción de citocinas típicas para la infección clamidial con acceso directo a la circulación, mimetizando una sepsis por Gram negativos; el efecto sobre lipoproteínlipasa, aumentando los niveles de triglicéridos y disminuyendo los de lipoproteína de alta densidad (HDL); la reacción del LPS clamidial con lipoproteínas de baja densidad (LDL) haciéndolas un blanco para anticuerpos con la internalización sucesiva vía receptores de complejos inmunes en macrófagos endoteliales, que se transforman así en células espumosas; el efecto del LPS clamidial fuertemente ácido sobre LDL, junto con sustancias oxidativas liberadas, haciéndolo un blanco de receptores "scavenger", reaccionando también con LPS; y la diseminación de la infección en paredes de vasos y miocardio.

SIIC: ¿Qué características particulares presentaban los pacientes con resultados negativos en la determinación de anticuerpos?

G.G.E.: Los pacientes con resultados negativos en la determinación de anticuerpos fueron 4.

Una paciente de 63 años de edad y un paciente de 30 con angina inestable, una paciente de 50 años con cardiopatía isquémica y un paciente de 56 con infarto agudo de miocardio.

Cuando interpretamos los datos de seropositividad, debemos ser cuidadosos y no confundir asociación con causalidad, y necesitamos considerar posibilidades alternativas. Los estudios transversales no pueden establecer una relación temporal entre exposición y enfermedad, y es extremadamente difícil para estudios que utilizan este diseño excluir la posibilidad de que las asociaciones observadas sean debidas a variables de confusión o a una causa particular.

SIIC: ¿Cuál cree que será en el futuro la utilidad de la detección de la infección por *C.*

***pneumoniae* en la prevención de las enfermedades cardiovasculares?**

G.G.E.: La seroepidemiología, patología y estudios animales proporcionan evidencia para una posible asociación entre infecciones por *C. pneumoniae* y aterosclerosis, enfermedad cardíaca coronaria e infarto agudo de miocardio. Si esta asociación existe, entonces la exposición a ciertos antibióticos puede afectar positivamente el curso clínico de un evento cardíaco isquémico agudo (prevención secundaria) y afectar el riesgo de desarrollo de infarto agudo de miocardio de primera vez (prevención primaria).

La evidencia preliminar de los ensayos clínicos sugiere que el tratamiento con nuevos antibióticos

macrólidos puede mejorar el resultado de eventos isquémicos, y la evidencia de un gran análisis de casos y testigos indica que la exposición a tetraciclinas o quinolonas puede reducir el riesgo de desarrollar un infarto agudo de miocardio por primera vez. Sin embargo, los antibióticos para el tratamiento o la prevención de la enfermedad cardíaca isquémica no deben recomendarse aún.

Las observaciones de la doctora García Elorriaga coinciden con las obtenidas en otros estudios anteriores, en los cuales se mostró que existe una asociación entre la infección por clamidias y el riesgo de enfermedad cardiovascular. Las investigaciones futuras determinarán la naturaleza de esta asociación.