

Avances en el manejo de la lesión de isquemia/reperfusión, con referencia a los 21 aminoesteroides

J. Antonio Tamara, M. Carmen Hernández Baro, Luis H. Toledo-Pereyra, Edward E. Hall, John Mc Call, Facultad de Medicina, UNAM

Resumen

La liberación de radicales libres de oxígeno, la acumulación de calcio intracelular, el aumento de la permeabilidad vascular, y la depleción de ATP celular son cambios frecuentemente observados durante la lesión de isquemia/reperfusión. Para disminuir estas alteraciones, se han estudiado compuestos como el alopurinol, la naloxona y la catalasa, que actúan como aceptadores de radicales libres.

Los 21-aminoesteroides recientemente se han desarrollado para el tratamiento de la lesión isquémica cerebral, principalmente debido a su efecto en la inhibición de la peroxidación lipídica de hierro, como aceptadores de radicales libres. Un compuesto particularmente, el U-74006F, se ha utilizado en modelos de choque hemorrágico, traumático e isquemia.

En este trabajo se revisan los conceptos fisiopatológicos generales de la lesión de isquemia/reperfusión y se discute el papel de los aceptadores de radicales libres, como el alopurinol, la naloxona y la introducción en los últimos años de Iso 21-aminoesteroides.

Introducción

La isquemia, que es la falta de flujo sanguíneo a un órgano, representa una forma de daño a los tejidos, en forma transitoria o permanente. Añadido a la lesión isquémica, se encuentra el daño de reperfusión del órgano, que ocurre inmediatamente después de la entrada de sangre al mismo. Como es difícil separar el daño producido por la isquemia, de la lesión de reperfusión, durante este trabajo nos referiremos en forma conjunta a la lesión de isquemia/reperfusión. Este estudio analiza los avances más recientes en el manejo de la lesión de isquemia/reperfusión, particularmente aquellos relacionados con el uso de los 21-aminoesteroides.

Alteraciones químicas y fisiopatológicas

Dentro de los cambios químicos y fisiopatológicos de la lesión de isquemia/reperfusión se encuentran los siguientes^{6 18 19 21 26}.

- 1.- Depleción de ATP celular en forma rápida, a través de un transporte activo, lo que puede producir daño irreversible a la célula.
- 2.- Acumulación de iones de calcio dentro de la célula (mitocondria), que se asocia con una disfunción respiratoria durante la reperfusión, después de 45 minutos de isquemia. La acumulación de calcio estimula la producción de ATPasa, que provoca disminución del adenosintrifosfato (ATP). La entrada de este ión a la

célula aumenta su permeabilidad lo que condiciona la elevación de los niveles de ácidos grasos libres citosólicos

- 3.- La xantino-deshidrogenasa al encontrarse en el tejido, se puede convertir en superóxido generador de la enzima xantino-oxidasa durante la isquemia.
- 4.- La hipoxantina es un sustrato de la xantino-oxidasa que se acumula dentro de la célula durante la isquemia.
- 5.- A través del mecanismo de xantino-oxidasa y NADPH oxidasa, los neutrófilos producen radicales libres de oxígeno y proteínas y lipoperoxidasas hasta lesionar la microvasculatura.
- 6.- La xantino-oxidasa también produce degradación de la hipoxantina y xantina a ácido úrico.
- 7.- Durante la isquemia, la xantino-deshidrogenasa se convierte en xantino-oxidasa.
- 8.- Las concentraciones de hipoxantina se incrementan 10 a 20 veces durante la isquemia intestinal.
- 9.- La permeabilidad vascular aumenta en el intestino isquémico.
- 10.- Se incrementa la quimioluminiscencia (producción de oxidantes), la cual se presenta después de la reperfusión en intestinos isquémicos.
- 11.- Hay reactivación de metabolitos libres de oxígeno, por medio de leucocitos polimorfonucleares, sobre todo neutrófilos.

Las células endoteliales reaccionan con los neutrófilos y macrófagos, liberando radicales libres de oxígeno. Otros productos derivados del endotelio, pueden tener una función reguladora, como el factor relajante derivado del endotelio y su acción sobre plaquetas y células del músculo liso.

Efectos de varios aceptadores de radicales libres en la lesión de isquemia/reperfusión

Con el objeto de disminuir las lesiones producidas a tejidos y órganos durante la lesión de isquemia/reperfusión, se han estudiado diversos compuestos como el alopurinol, naloxona, catalasa, superóxido dismutasa que actúan como aceptadores de radicales libres, sobre la liberación de superóxido por neutrófilos, así como radicales oxidrilo. Otros compuestos como los 21 aminoesteroides, aceptan e inhiben la peroxidación lipídica, manteniendo los niveles normales de alfatocoferol (Vitamina E).

El alopurinol es un inhibidor de la xantino-oxidasa que se ha utilizado para proteger la lesión de isquemia/reperfusión por su efecto para aceptar a los radicales libres de oxidrilo.

Vasko y cols.²⁴, usaron el alopurinol en el riñón y el miocardio de perros con resultados favorables. Toledo-

Pereyra y cols.²³, ampliaron el uso de este compuesto, en animales que recibieron trasplante de riñón isquémico. Inicialmente, la hipótesis se basó en el acúmulo de bases puricas para aumentar la síntesis de ATP. Posteriormente, estudios de Granger⁵, propusieron los radicales libres como factores causantes principales en la lesión e isquemia/reperfusión.

Toledo-Pereyra y cols.²², utilizaron el alopurinol como bloqueador de radicales libres de oxidrilo en la preservación hepática, basados en la hipótesis que la preservación hipotérmica del órgano, da por resultado la producción de radicales libres de oxígeno, por la vía del sistema xantino-oxidasa. También observó que la dismutasa superóxido, la catalasa y el alfa-tocoferol podía proteger al órgano contra la lesión de reperfusión ya que estos compuestos actúan como aceptadores de los radicales libres.

La naloxona se ha utilizado en la isquemia del riñón²⁴ e intestino delgado⁸, donde se sugirió su posible efecto aceptador sobre la liberación de radicales libres, que activan las proteasas y lipoperoxidasas, que dan como consecuencia la lesión de la microvasculatura⁸.

Papel de los 21-aminoesteroides

Los 21-aminoesteroides son una serie de compuestos que se han desarrollado para el tratamiento de la lesión isquémica o traumática del sistema nervioso central (SNC)^{1 2 3 4 7 8 9 10 11 12 13 14 16 17 20 25 27}. También se han utilizado en corazón y actualmente se están investigando en intestino delgado. En el SNC se ha visto que reduce la mortalidad y el déficit sensorio motor después de producir isquemia global en cerebro. Es un potente inhibidor de la peroxidación lipídica dependiente del hierro y de los radicales libres de oxígeno, además se ha observado que tienen un mayor efecto en los tejidos con flujo colateral²⁶.

Los 21-aminoesteroides atraviesan la membrana celular y no tienen efecto glucocorticoides; a grandes dosis semejan el efecto de los esteroides sintéticos como la metilprednisolona.

El primer 21-aminoesteroides fué sintetizado en 1985 y desde entonces se han desarrollado cerca de 400 compuestos, siendo el U-74006F el que más se ha estudiado *in vivo* (fig. 1)⁴. Los 21-aminoesteroides son también estabilizadores de la membrana y actúan aceptando la liberación de ácido araquidónico por la célula lesionada⁴.

El U-74006F también actúa sobre el intercambio iónico, habiendo acumulación de sodio, disminución del potasio del edema alrededor del infarto⁴. Esta droga se ha administrado en modelos de choque hemorrágico y séptico, además de los modelos de isquemia (Cuadros 1 y 2). Aún

CUADRO 1. RESUMEN DEL EFECTO DE EL 21-AMINOESTEROIDE, U-74006F, EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

AUTOR	MEDICAMENTO	ORGANO BLANCO	TIEMPO DE ISQUEMIA	GRUPOS	DOSIS (VIA)	TIEMPO DE ADMINISTRACION	RESULTADOS
HALL, y Cols. 1987 (7)	U-74006F	a. Lesión encefálica (ratón)	Trauma directo con 50g	1.- U-74006F 2.- Vehículo	0.001-30 mg/k 1 mg/K, IV	5 minutos posttrauma; 5 y 15 horas después de la lesión	Sobrevida: 1.-78% a 1 semana; 2.-27% a 1 semana. p 0.02
	U-74006F	b. Lesión del cordón espinal lumbar. (gatos)	Lesión por compresión por 30 minutos.	1.- Vehículo a2.- U-74006F	Inicial 0.01-30 mg/K. Mantenimiento 0.16-160 mg K	30 minutos después y 24 hrs. 2.5 y 6 hrs. con 42 hrs. de infusión IV.	1-4 semanas 20% Normal. 2.- 4 semanas 75% Normal.
	U-74006F	c. Hemorragia subaracnoidea (gatos)	0.5 ml/K intracisterna de sangre arterial no heparinizada	1.- Vehículo 2.- U-74006F	1 mg K	30 minutos después de la hemorragia	1.- 50% 3 horas disminuye el flujo en núcleo caudado.
	U-74006F	d. Choque hemorrágico (gatos)	Hemorragia 45-40 mm Hg	1.- Metilprednisolona 2.- U-74006F 3.- Vehículo	30 mg/K 10 mg K 10 mg K	2 horas después de reinfusión de sangre 5 minutos después	2.- Normales. 1.- 71. 2.-24,3.- 1A 2 a 3 p<0.01
HALL, y Cols. 1988 (11)	U-74006F	Choque hemorrágico (gatos)	Tiempo de sangrado 5 minutos: 45-50 mmHg	1.- Vehículo 2.- Metilprednisolona 3.- U-74006F	10 mg/K 30 mg K 10 mg/K	2 horas después y 5 minutos pre y post infusión	p<0.05 posttransfusión y 120' posttransfusión p<0.05 1 vs 2 y 3.
BRAUGHLIER, y Cols. 1988 (3)	U-74006F Metilprednisolona	Pituitaria (ratón)		1.- U-74006F	30-100 mg día	4 días	No disminuyó de peso No disminuyó timo No aumentó Glucosa Metilprednisolona Glusa. peso del timo aumento.
				2.- Vehículo	30-100 mg día	4 días	
				3.- Metilprednisolona	30 mg K día	6 días	
				4.- Ratas U-74006F	30 mg K día		
				6.- Vehículo	4.5 ml IV		
HALL, y Cols. 1988 (10)	U-74006F	Aracnoides (gatos)		Droga: 1.- (n=4) Droga: 2.- (n=5) Vehículo: 3.- (n=6)	0.1 mg/K 1.0 mg K 1.0 ml/K	20 horas después de inducir el vasoespasm cerebral	Disminución de 50% en el grupo tratado del vasoespasm.
HALL, y Cols. 1988 (12)	U-74006F	Médula espinal (gatos)		1.- U-74006F (n=6) 2.- U-74006F (n=6) 3.- Vehículo (n=6)	3 mg K 10 mg K 10 mg/K	T: 30 minutos después de la lesión	A 10 mg/K previene el efecto de la isquemia.
HALL, y Cols. 1988 (9)	U-74006F	S N C (gerbiles)	3 horas	1.- U-74006F (n=14) 2.- U-74006F (n=15) 3.- Vehículo (n=22)	3 mg/K IP 10 mg K IP 0.2 ml IP	10 minutos antes de la isquemia y 2da. al retirar el clamp.	Reduce la muerte neuronal y protege del daño cerebral postisquémico.
HALL, y Cols. 1988 (12)	U-74006F	Cordón Espinal (gatos)	10, 30 minutos y 1 hora. 2, 3 y 4 horas	1.- Vehículo (n=13) 2.- U-74006F (n=5) 3.- Vehículo HCL 4.- U-74006F (n=5) 5.- U-74006F (n=5) 6.- U-74006F (n=6) 7.- U-74006F (n=6)	1.- 10 mg K 2.- 10 + 5 Mg K 3.- 1.0 ml K vol. 4.- 0.3 + 0.15 mg K 5.- 1.0 + 0.5 mg K 6.- 3.0 + 1.5 mg K 7.- 10.0 +5 mg K	10 minutos a 3 horas después de la oclusión de la arteria carótida unilateral.	Disminución de la peroxidación lipídica postisquémica manteniendo los niveles de Vitamina E. 1.- (4) 3, 4, 2.- 3.0 3.- (11) 0.7 4.- (5) 0.7 5.- (5) 1.4 p<0.05 6.- (6) 1.2 p<0.05 7.- (6) 1.7 p<0.05
ANDERSON, y Cols. 1988 (1)	U-74006F	Cordon Espinal (gatos)	Lesión por compresión de 30 minutos	Vehículo: 1.(n=5) Droga: 2. (n=5 8)	Inicial: 0.01-30 mg K Mantenimiento: 0.16-160 mg K	30 minutos y 48 horas después. 2.5 a 6 horas con 42 horas de infusión IV	Vehículos: 2.2 +/-0.7 = 20% Droga: 7.3+ -0.5 - 8.0+ -0.7 =66% a 73%

continuación cuadro 1

AUTOR	MEDICAMENTO	ORGANO BLANCO	TIEMPO DE ISQUEMIA	GRUPOS	DOSIS (VIA)	TIEMPO DE ADMINISTRACION	RESULTADOS
YOUNG, y Cols. 1988 (25)	U-74006F	S N C (rata)	24 horas	Druga: (n=8) Druga: (n=8) Vehículo: (n=8)	3 mg K 10 mg K	10 minutos y 3 horas después de la oclusión	Reduce la entrada de agua, aumenta Na, Disminuye K, Reduce el edema en isquemia cerebral.
STEINKE / Cols. 1989 (20)	U-74006F	Vasos Cerebrales (monos)		Druga: 1.- (n=20) Vehículo: 2.- (n=20)	1.- 1.5 mg K 2.- 1.5 mg K	20 horas después de inducir el vasoespasmio cerebral	Disminución del vaso espasmio: 50% en el grupo tratado
ZUCARELLO, y Cols. 1989 (28)	U-74006F	Aracnoides (ratas)		1.- Control (n=5) 2.- Vehículo (n=6) 3.- Hemorragia (n=6) 4.- U-74006F (n=6) 5.- Vehículo (n=5) 6.- Acido Araquidónico* 300 ul de una sol. 7.- U-74006F + ácido a-de 80 ug. ml IV raquidónico (n = 5) - 1 mg/K IV + 300 ul 8.- FeC12 (n=5) de ácido 9.- U-74006F + FeC12 - 300 ml de concentrado (n=7) de 100 mM * (n=6)	-300 ml NaCl 9% IV - 1 mg/K IV	15 minutos antes y 2 horas después de la hemorragia	Protección de la barre- ra hematoencefálica.
N.AOKI, y Cols. 1989 (2)	U-74006F	Choque Traumático (ratas)	5 Horas	a.- Falso (n=9) b.- Vehículo (n=12) c.- Droga (n= 12) d.- Droga (n=12) e.- Droga (n=12)	15 mg K IV 10 mg K IV 7.5 mg K IV 15 mg K IV 22.5 mg K IV	15-20 minutos	Sobrevida: d = p < 0.05 e = p < 0.05 Disminución de radica- les libres, catepsin D disminuido, factor inhi- bidor del miocardio dismi- nuido.

CUADRO 2 RESUMEN DEL EFECTO DE EL 21-AMINOESTEROIDE, U-74006F EN EL SISTEMA RENAL Y SISTEMA CARDIOVASCULAR.

AUTOR	MEDICAMENTO	ORGANO BLANCO	TIEMPO DE ISQUEMIA	GRUPOS	DOSIS (VIA)	TIEMPO DE ADMINISTRACION	RESULTADOS
NATALE, y Cols. 1988 (5)	U-74006F	Corazón (perros)	10 minutos	Druga: (n=6) Vehículo: (n=7) Dopamina Druga: (n=16) Vehículo: (n=7)	1.5 mg K IV 1.5 mg K IV 10 mg/K/min IV .125 mg/K hora IV .125 mg K hora IV	a.- 12-15 minutos b.- 12 horas	El U-74006F disminu- ye la mortalidad a las 24 horas. Son ne- cesarios más estudi- dios, la significancia es especulativa.
PODRAZICK, y Cols. 1989 (17)	U-74006F	Riñón (ratas)	45 minutos	1.- Vehículo: (n=10) 2.- Droga: (n=10) 3.- Flujo controla- do (n=4)	3.0 mg K IV	Antes de clampear y en el tiempo medio	Creatinina en suero: 1.- 24,48 y 72 hrs 2.- 24,48 y 72 hrs. 3.- Sin variación Sobrevida: 1.- 80% 2.- 100%
HOLZGREFE, y Cols. 1990 (14)	U-74006F	Corazón (perros)	1 minuto	Vehículo: (n=11) Druga: (n=10) Flujo controladó (n=5)	6 mg K IV	15 minutos antes de la reperusión	El pretratamiento con U-74006F mejora la fución cardíaca

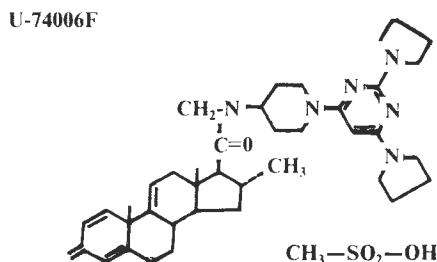


Fig. 1. (21-[4-6-Di-1-pirrolidinil-4-pirimidil]-1-piperazinil) 16- α -metil-pregna-1,4,9-(11)-trieno-3,20-diona, monometano sulfonato).

cuando se utilice en grandes dosis no hay inhibición del eje hipotálamo-pituitario-suprarrenal, que es un efecto comunmente observado en los glucocorticoides⁴.

Los resultados obtenidos con el U-74006F sugieren que estos compuestos representan una nueva terapéutica en la lesión de isquemia/reperfusión.

Referencias

- Anderson, D, Braughler, J.M., Hall, E.D., et al: Effect of Treatment with U-74006F of Neurological Outcome Following Experimental Spinal Cord Injury. *J. Neurosurg.* 69: 562-567, 1988.
- Aoki, N., Lefer, A: Protective Effects of A Novel Nonglucocorticoid 21-Aminoesteroid (U-74006F) During Traumatic Shock in Rats. *J. Card. Pharmacology*, 15 (2): 205-210. 1989.
- Braughler, J.M., Chase, R.L., Neff, G.L., et al: A New 21-Aminosteroid Antioxidant Lacking Glucocorticoid Activity Stimulates Adrenocorticotropin Secretin and Blocks Arachidonic Acid Release from Mouse Pituitary Tumor (ATT-20) Cells. *J. of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 244 (2): 423-427, 1988.
- Braughler, J.M., Hall, E.D., Jacobsen, E.J., et al: The 21-Aminosteroid: Potent Inhibitors of Lipid Peroxidation for the Treatment of Central Systems Trauma and Ischemia. *Drugs of the Future*, 14 (2): 143-152, 1988.
- Granger, D.N., Rutili, G., Mc Cord, J.: Superoxide Radicals in Feline Intestinal Ischemia. *Gastroenterology*, 81: 22-29, 1981.
- Gutierrez, V.R., Toledo-Pereyra, L.H.: Acute Mesenteric Small Bowel Ischemia in the Rat. *Transplantation*, 49(2): 830-833, 1990.
- Hall, E.D.: Beneficial Effects of the 21- Aminosteroid U- 74006F in Acute CNS Trauma and Hipovolemic Shock. *Acta Anaesth. Belg.* 38: 421-425, 1987.
- Hall, E.D., Yonkers, P.A., McCall, J.M., et al: Effect of the 21-Aminosteroid U-74006F on Experimental Head Injury in Mice. *J. Neurosurg.* 68: 456-461, 1988.
- Hall, E.D., Pazzara, K.E., Braughler, J.M., et al: 21-Aminosteroid Lipid Peroxidation Inhibitor U-74006F Protects Against Cerebral Ischemia in Gerbils. *Stroke*, 19(8): 997-1002, 1988.
- Hall, E.D., Travis, M.A.: Effects of the Nonglucocorticoid 21-Aminosteroid U-74006F on Acute Cerebral Hipoperfusion Following Experimental Subarachnoid Hemorrhage. *Experimental Neurology*, 102: 244-248, 1988.
- Hall, E.D., Yonkers, P., McCall, J.: Attenuation of Hemorrhagic Shock by Nonglucocorticoid 21- Aminosteroid U-74006F *European J. of Pharmacology*, 147: 299-303, 1988.
- Hall, E.D., Yonkers, P., Horan, K., et al.: Correlation Between Attenuation of Posttraumatic Spinal Cord Ischemia and Preservation of Tissue Vitamin E by the 21- Aminosteroid U-74006F. Evidence for an in vivo Antioxidant Mechanism. *J. of Neurotrauma*, 6(3): 169-176, 1989.
- Hall, E.D., Pazzara, E., Braughler, J.M. : Effects of the 21- Aminosteroid Antioxidant U-74006F on Postischemia Depletion of Brain Vitamin E and Recovery of Extracellular Calcium. *J. of Cerebral Blood Flow Metabolism*, 9, suppl. 1:S561, 1989.
- Holzgreff, H.H., Buchanan, L.V., Gibson, J.K.: Effects of U-74006F A Novel Inhibitor of Lipid Peroxidation, in Stunned Reperfused Canine Myocardium. *J. Cardiovasc. Pharmacology*, 15: 239-248, 1990.
- Natale, J.E., Schott, R.J., Hall, E.D., et al: Effect of the Aminosteroid U-74006F After Cardiopulmonary Arrest in Dogs. *Stroke*, 19(11): 1371-1378, 1988.
- Perkins, W.J., Milde, L.N., Milde, J.H., et al: Effect of a 21-aminosteroid oxygen- Free Radical Sacavenger on Neurological Outcome Following Complete Cerebral Ischemia in Dogs. *J. of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 9, Suppl. 1:S 562, 1989.
- Podrazick, R.M., Obedian, R.S., Remick, D.G., Zelenock, G.B., et al.: Attenuation of Structural and Functional Damage from Acute Renal Ischemia by the 21- Aminosteroid U-74006F in Rats. *Current Surgery*, pp 287-292, July-August 1989.
- Ratyck, R.E., Bulkley, G.B.: Free-Radical- Mediated Postischemia Reperfusion Injury in the Kidney. *J. of Free Radicals in Biology and Medicine*, 2: 311-319, 1986.
- Ryan, N.S., Van, J.M.: Endothelial Cells: A Source and Target of Oxidant Damage. EDS. Michael G. Simic, Karen A. Taylor, John F. Ward, and Clemens Von Sonntag. *Oxygen Radicals in Biology and Medicine*. U.S.A., Plenum 49: 963-968, 1988.
- Steinke, D.E., Weir, B.K., Finalay, J.M., et al: A Trial of the 21-Aminosteroid U-74006F in A primate Model of Chronic Cerebral Vasospasm. *Neurosug.* 24 (2): 179-185, 1989.
- Stewart, J.R., Merrill, W.H. and Frist, W.H.: Oxygen Radical Scavengers and Myocardial Preservation During Transplantation: Role of Xantine-Oxidase. EDS. Michael G. Simic, Karen A. Taylor, John F. Ward and Clemens Von Sonntag. *Oxygen Radicals in Biology and Medicine*. U.S.A., Plenum, 49: 957-962, 1988.
- Toledo-Pereyra, L.H.: The Role of Allopurinol and Oxygen Free Radical Scavengers in Liver Preservation. EDS. Michael G. Simic, Karen A. Taylor, John F. Ward and Clemens Von Sonntag. *Oxygen Radicals in Biology and Medicine*, E.U.A. Plenum, 49: 1047-1052, 1988.
- Toledo-Pereyra, L.H. and Najarian, J.S.: Effective Treatment of Severely Damage Kidneys Prior to Transplantation. I. Preliminary Results. *Transplantation*, 16: 79, 1973.
- Vasko, K.A., De wall, R.A., Riley, A.M.: Effects of Allopurinol in Renal Ischemia. *Surgery*, 71(5): 787-790, 1972.
- Young, W., Wojack, J.C., De Crescinto, V.: 21- Aminosteroid Reduces Ion Shifts and Edema in the Rat Middle Cerebral Artery Occlusion Model of Regional Ischemia. *Stroke*, 19(8) 1013-1019, 1988.
- Zimmerman, B.J., Grisham, M.B., Granger, D.N.: Mechanism of Oxidant-Mediated Microvascular Injury Following Reperfusion of the Ischemic Intestine. EDS. Michael G. Simic, Karen A. Taylor, John F. Ward and Clemens Von Sonntag. *Oxygen Radicals in Biology and Medicine*, U.S.A., Plenum, 49: 881-866, 1988.
- Zuccarello, M., Anderson, D.K.: Protective Effect of a 21- aminosteroid on the Blood-Brain Barrier Following Subarachnoid Hemorrhage in Rats. *Stroke*, 20(3): 367-371, 1989.