

10561 1
2ej.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**EVALUACIÓN FARMACOLOGICA DE NUEVOS AGENTES
ANTIARRÍTMICOS DE TIPO FENÓLICO DE LA CLASE-1 EN EL
MODELO DE ISQUEMIA REPERFUSIÓN MIOCÁRDICA EN RATA.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**MAESTRÍA EN CIENCIAS EN FÍSICOQUÍMICA
MÉTODOS Y METROLOGÍA**

P R E S E N T A :

QFB. CECILIA MARÍA DEL CARMEN BENÍTEZ HERNÁNDEZ.

DIRECTORA: M. EN C. LUISA MARTÍNEZ AGUILAR.

**ASESORES: M. EN C. ENRIQUE ÁNGELES ANGUIANO.
DR. EDMUNDO CHÁVEZ COSÍO.**

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO 1998.

265939

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

P/O

AGRADECIMIENTOS

A MIS ASESORES:

M. en C. LUISA MARTÍNEZ AGUILAR
M en C. ENRIQUE ÁNGELES ANGUIANO

Por su dirección, asesoramiento y conocimiento brindado.

A MI JURADO:

Por todas esas nutridas aportaciones y refinamiento de la presente investigación.,

DRA. DIANA LUZ ARTEAGA BARCAZ
M. en C. MA. EUGENIA R. POSADA GALARZA
DR. EDMUNDO CHÁVEZ COSIO

La imaginación, es más importante que el conocimiento,
ya que el conocimiento es limitado,
mientras que la imaginación
comprende a todo el mundo,
estimula al progreso y
da origen a la evolución,...
hablando en términos estrictos
es un factor real
en la Investigación Científica,

Albert Einstein.

RESUMEN

Debido a la trascendencia de las enfermedades cardiovasculares especialmente la aterosclerosis crónica que genera alteraciones en arterias y como consecuencia insuficiencia miocárdica, como son el infarto y la isquemia y con ello arritmias por isquemia. Han surgido diversas terapias donde la reperfusión en los casos principalmente trombolíticos ha sido un antídoto actualmente cuestionable por lo que surge la necesidad de desarrollar mejores agentes antiarrítmicos que suplan a los antídotos mecánicos; por ende en este trabajo nos dedicamos a la evaluación de la actividad farmacológica de los agentes 2,6-bis(1-piperidinilmetil)fenólicos, desarrollados en el Laboratorio de Química Medicinal de la FES- Cuautitlán partiendo de las modificaciones estructurales realizadas al compuesto "Changrolina".⁴⁵

Con la finalidad de caracterizar el efecto farmacológico de los nuevos agentes fenólicos, (IGNA-1, IGNA-3, ANTIV-X), en el presente trabajo se analizaron los efectos, en relación a los cambios electrocardiográficos, e histológicos haciendo comparaciones entre ellos.

Para cumplir con este propósito se utilizaron ratas Wistar macho de 250 a 300g de peso, administrándolos en cinco lotes: Lote 1).- Control, Isquemia-Reperfusión el cual funcionó como referencia para determinar los parámetros característicos de un ECG bajo arritmias inducidas. Lote 2).- Control con vehículo en el cual se administró la mezcla del vehículo Acetona + Propilenglicol, para la dosis de 10mg/Kg en todos los compuestos y la mezcla de Dimetilformamida + Propilenglicol para las dosis de 1mg y 3.1mg/Kg de peso. Lote 3).- Grupo tratado con IGNA-1, a las dosis de 1,3.1, y 10mg/Kg de peso. Lote 4).- Grupo tratado con IGNA-3, a la dosis de 1, 3.1, y 10mg/Kg de peso. Lote 5).- Grupo tratado con ANTIV-X, a la dosis de 1,3.1, y 10mg/Kg de peso.

En todos los casos la administración fue por vía intravenosa. Se empleó el modelo de Isquemia/Reperfusión, en rata anestesiada con pentobarbital sódico por vía intraperitoneal y se mantiene con respiración artificial asistida por medio de una traqueotomía se canula la arteria femoral derecha para disección conectándola a un transductor de presión y la vena se utiliza para la administración de los compuestos y se conectan los electrodos superficiales en ambas extremidades superiores y en la extremidad inferior izquierda.

para el registro de derivada uno. Por medio de una toracotomía se expone al corazón y se ocluye la arteria coronaria descendente anterior izquierda con hilo de seda 6/0, anudando la seda sobre un tubo de plástico de aproximadamente de 1cm de longitud y 1mm de diámetro y se deja ocluida por 4min. y medio, registrando el ECG en cada minuto. Pasado este tiempo se elimina la ligadura y se registra el ECG de el periodo de reperfusión al minuto 5,6,7,8,9 y 10. Al término del registro se extraean los corazones para el estudio histológico.

Los compuestos presentaron diferente solubilidad en función a la dosis, por lo tanto se realizaron dos tipos de mezclas para los vehiculos, para las dosis de trabajo de 1mg y 3.1mg/Kg de peso se empleo la mezcla de DMF+PPG, mientras que para los casos de dosis de 10mg/Kg de peso se utilizó la mezcla Acetona+PPG.

En general todos los agentes fenólicos disminuyeron la frecuencia cardiaca,(bradicardia sinuasi), así mismo se determinó que tienen actividad antiarrítmica en el siguiente orden de importancia: IGNA-3 seguido de IGNA-1 y finalmente el menos efectivo resultó ser el ANTIV-X. La actividad antiarrítmica fue esencialmente contra las taquicardias y fibrilaciones ventriculares, pero no impidieron el desarrollo de extrasístoles ventriculares, debido a su presumible acción parasimpaticolítica y anticolinérgica que altera el automatismo, la contractilidad y el tono muscular. Por su parte cabe señalar que la fibrilación ventricular se vio aumentada proporcionalmente a la dosis en el siguiente orden; ANTIV-X, siguiendole IGNA-1 y finalmente IGNA-3.

Los efectos antiarrítmicos más significativos se obtuvieron a la dosis de 3.1mg/Kg de peso y básicamente durante los primeros minutos de reperfusión, como consecuencia de su actividad fugaz.

Por otro lado en el análisis histológico, el comportamiento fue muy variado en cada dosis obteniendo que a la dosis de 1 mg/Kg de peso, IGNA-3 con 12% de tejido dañado indicó la mayor protección a nivel celular. Por su parte a la dosis de 3.1 mg/Kg de peso el grupo tratado con ANTIV-X fue el de mayor efecto protector con un 11% y finalmente a la dosis de 10mg/Kg de peso, IGNA-3 con 9% de tejido dañado, obtuvo la mayor protección celular. Sin embargo uno de los parámetros observados en todos los casos tratados fue el alto índice de hemorragia celular por lo que se postula que su mecanismo de acción es a nivel del bloqueo en los canales de sodio.

Por estudios teóricos se hace hincapié en que el grupo fenólico es la zona importante funcional como antiarrítmico, sin embargo se necesita profundizar más estos datos para realizar una determinación más clara de la relación estructura química-actividad biológica.

1.- GENERALIDADES

1.1.- PROPIEDADES BÁSICAS DE LA CÉLULA CARDÍACA.

Con el descubrimiento de la disposición del músculo cardíaco ⁵, es sabido que su tejido está constituido por células alargadas altamente especializadas en la contracción con unidades contráctiles llamadas sarcomeros que contienen, *actina* y *miosina* dispuestas en forma fibrilar y transforman la energía en energía mecánica mediante la degradación del ATP, lo que le confiere al corazón la capacidad de actuar como bomba, propagando la excitación de una forma ordenada a través del miocardio. En condiciones normales los impulsos generados por las células automáticas del nodo sinoauricular se propagan de manera secuencial a las aurículas, nodo auriculoventricular, sistema His-Purkinje y músculo ventricular para poder comprender esta compleja secuencia que se repite durante cada ciclo cardíaco es necesario conocer las propiedades de las células cardíacas tales como el automatismo, la conductividad, excitabilidad, contractilidad, tono muscular ^{31,34,41,43} que se describen a continuación en la TABA 1.

TABLA 1: PROPIEDADES BÁSICAS DE LAS CÉLULAS CARDÍACAS ²⁵

AUTOMATISMO (Cronotrópica)	Impone la actividad rítmica del corazón encontrándose principalmente en el marcapaso cardíaco.
CONDUCTIVIDAD (Dromotropismo)	Da la velocidad de propagación de los estímulos activados originados en el nodosinusal o sinoauricular y es abolida por intoxicación inflamación o anoxia
EXCITACIÓN (Batmotropismo)	Intensidad de estímulos para responder a influencias externas mecánicas, térmicas o químicas capaces de provocar la contracción.
CONTRACTIBILIDAD (Inotrópica)	Es consecuencia de los estímulos intrínsecos originados por el automatismo, efectuándose el deslizamiento de miofilamentos de uno sobre otro.
TONO	Está en función a la condición fisiológica del corazón. Esta disminuido al quedar sangre residual después de la contracción y se tiene un tono elevado al bajar por completo la sangre durante la diástole.

1.2.- POTENCIAL DE ACCIÓN DE LA CÉLULA MARCAPASO

La actividad eléctrica del corazón es debida a la composición iónica entre los medios intra y extracelular así como de la naturaleza semipermeable de la membrana lo cual, genera potenciales eléctricos. como son: *el Potencial de Reposo y el Potencial de Acción transmembranal.*

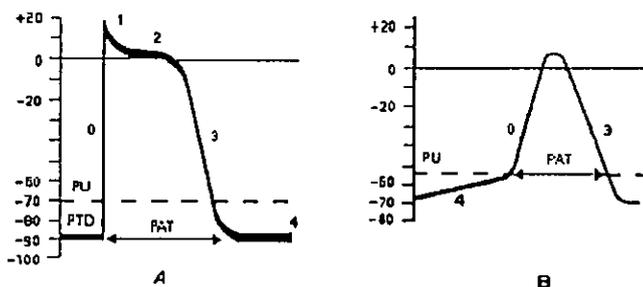
El potencial de reposo transmembranal o polarización diastólica; permanece estable mientras la célula no es estimulada, oscilando entre -80 y -90mV en las fibras musculares auriculares, ventriculares y en el sistema His Purkinje y entre -50 y -65 en las fibras de los nodos Sinusal y Auriculoventricular.

El potencial de acción transmembranal es la despolarización rápida (+20mv), seguido de una repolarización lenta. Este potencial comprende cuatro fases comenzando con una fase ascendente rápida llamada *fase cero* (despolarización), como se observa en la Fig. 1. Curva del Potencial de Acción transmembranal, este tiempo refleja la velocidad de conducción del estímulo, por lo tanto un ascenso lento significa lentitud de conducción. Después se observa un corto periodo de repolarización precoz llamada *fase-1*, al que sigue la repolarización lenta conocida como *fase-2 o meseta*, continuando con una fase de repolarización rápida o *fase-3*. El periodo diastólico que separa dos curvas de potencial de acción transmembranal se llama *fase-4*, también cabe mencionar que entre las fases 3 y 4, se inscribe un pequeño potencial tardío que se llama *de hiperpolarización diastólica*, si es positivo, o de *polarización incompleta*, si es negativo.^{13, 32, 78}

1.3.- ELECTROFISIOLOGIA CARDIACA.

Por su parte la transmisión de la onda de despolarización llamada impulso cardiaco, al atravesar corazón, difunde las corrientes eléctricas y una pequeña parte llega a la superficie corporal por lo tanto colocando electrodos en el cuerpo es posible registrar los potenciales eléctricos y a éste registro se le conoce como *electrocardiograma*. El Electrocardiograma (ECG) es el registro gráfico de la actividad eléctrica del corazón y constituye una de las pruebas médicas de evaluación de la función cardíaca.²¹ En la Fig. 2: Expresión Gráfica del Electrocardiograma Normal, es posible observar los cambios eléctricos de la célula (miocito) que acompañan al ciclo cardíaco detectando el impulso cardiaco que se origina en el sistema de

conducción el nodo senoauricular (marcapaso), las vías auriculares y el nodo Auriculoventricular propagándolo a todo el miocardio en el orden adecuado. El electrocardiograma normal se forma por una onda P, un complejo QRS y una onda T. El complejo QRS incluye tres ondas separadas, la Q, la R, y la S. La onda P depende de las corrientes eléctricas generadas cuando las aurículas se despolarizan antes de la contracción, y el complejo QRS es producido cuando el ventrículo se despolariza antes de contraerse, por lo tanto la onda P y los componentes del complejo QRS son *ondas de despolarización* y en consecuencia la onda P ocurre al principio de la contracción de las aurículas y la onda QRS tiene lugar al principio de la contracción de los ventrículos. La onda T está causada por corrientes nacidas cuando el ventrículo se recupera del estado de despolarización y esta onda se conoce como *onda de repolarización*. La frecuencia de latidos cardiacos también puede determinarse con el electrocardiograma ya que el intervalo entre dos latidos sucesivos es el correspondiente al valor inverso de la frecuencia cardíaca. ^{8,22,26,34}



[A] Célula de respuesta rápida [célula contráctil ventricular].
 [B] Célula de respuesta lenta [célula del nodo sinusal].
 PU = potencial umbral, PAT = potencial de acción transmembranal,
 PTD = potencial transmembranal diastólico.

FIGURA 1: POTENCIAL DE ACCIÓN TRANSMEMBRANAL
 "Clínica de Las Arritmias." La Prensa Médica Mexicana. 1987.

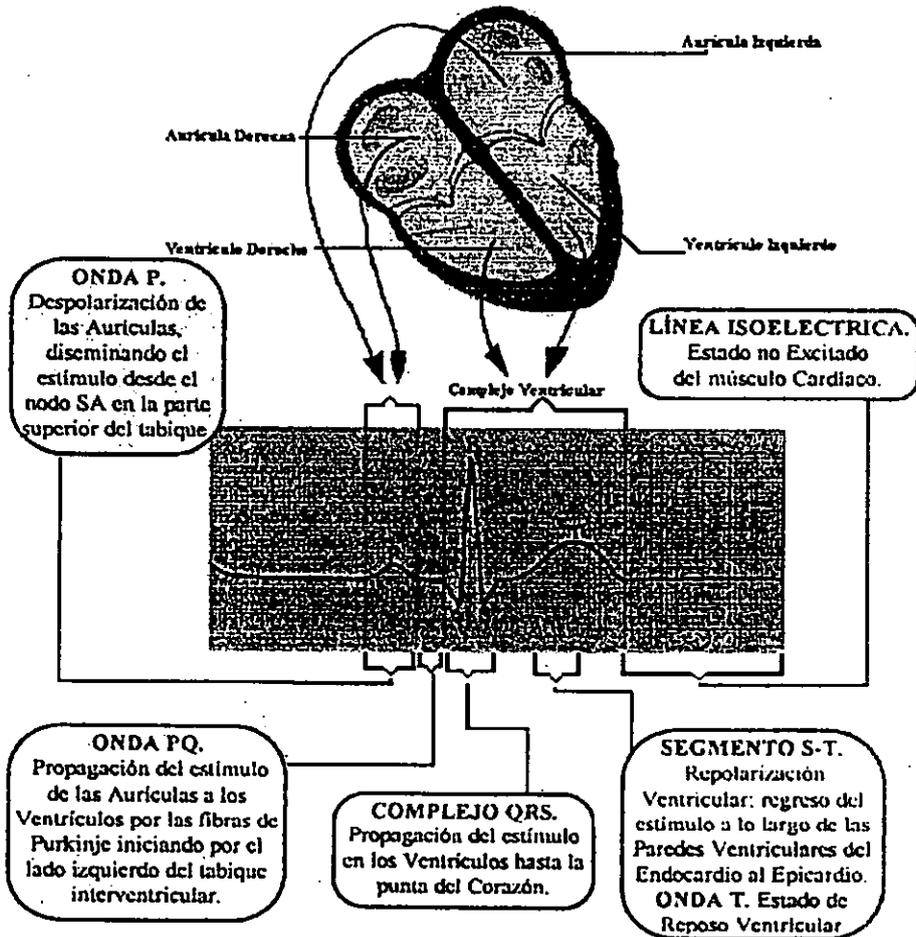


FIGURA 2: EXPRESIÓN GRÁFICA DEL ELECTROCARDIOGRAMA NORMAL.

"El Gran Libro de la Salud," Enciclopedia Selecciones. 1971.

1.4.- FISIOPATOLOGÍA DEL RITMO CARDIACO.

Los padecimientos cardiovasculares degenerativos constituyen la mayor carga en los sistemas de salud pública ya que han sido causa de mortalidad precoz y de invalidez en época productiva de la vida, lo cual genera un impacto social y económico considerable, como se ha demostrado con estudios realizados en diversos países entre ellos Canadá donde se observó que para 1991, el 6% de la población adulta sufre de limitaciones en sus actividades debido directamente a padecimientos coronarios y circulatorios y el 20% de la población pensionada sufre de enfermedades cardíacas.¹⁰ En otros países desarrollados cada 5 personas de 1000 habitantes sufren de infarto al miocardio anualmente y las *arritmias son la complicación más común del infarto al miocardio* ocurriendo en un 80-95% de los pacientes en esta condición y otras 5 personas desarrollan fibrilación ventricular por causas diferentes a la isquemia.⁶⁷ En general la vida contemporánea ha fomentado ciertos hábitos de conducta, en forma muy particular en zonas urbanas, como lo es el consumo de alimentos ricos en ácidos grasos, sodio, potasio, proteínas entre otros que son benéficos en cantidades adecuadas.⁶⁸ sin embargo estudios de los hábitos alimenticios en diferentes poblaciones han demostrado una estrecha relación entre los padecimientos cardiovasculares y los altos niveles de colesterol y ácidos grasos en sangre,³⁰ así como también, el querer realizar un mayor número de actividades en un periodo breve de tiempo lo que conduce a un constante estrés y los niveles bajos de ejercicio físico debido a una vida más sedentaria, ha indicado una relación estrecha entre la posición industrial y la frecuencia de cardiopatías.¹⁹

En México durante los últimos años la mortalidad por enfermedades cardiovasculares estuvieron dentro de los primeros lugares desde 1979⁶⁵. En particular la mortalidad por cardiopatía isquémica, va proporcionalmente en aumento y ha comenzado a incrementarse principalmente en los estados del norte de la República, este fenómeno ha sido lento y por ello aparentemente inadvertido, en observaciones recientes sobre la mortalidad en 1950 a 1980 la tasa de letalidad por cardiopatía isquémica aumentó 40 veces es decir dicho padecimiento va teniendo mayor auge como causa de muerte, sólo en orden de frecuencia es la tercera causa de muerte en la población en general.⁵⁹ Como ya se mencionó actualmente se sabe que, *en la muerte causada por cardiopatía isquémica, las arritmias ventriculares juegan un papel primordial* ya que suelen estar presentes

en ciertos periodos durante la enfermedad ⁴² en este mismo sentido con base a los datos reportados por el Sistema Nacional de Epidemiología, este tipo de enfermedades ocupa uno de los primeros lugares en la morbilidad y mortalidad en países como el nuestro, todavía para 1993, las enfermedades cardiacas ocupan una de las causas de mortalidad general con una tasa de 66.1 por 100,000 habitantes con una tendencia a incrementarse conforme aumenta la edad con la tasa más alta en el grupo de 65 años lo cual indica una tendencia preocupante, considerando el crecimiento en el rango de esperanza de vida, que es de 71 años promedio para la población Mexicana y por ello surge la necesidad de mejorar la calidad de vida para dicha población, siendo este el enfoque de los estudios farmacológicos cardiovasculares actuales. ³³

1.4.1.- ARRITMIAS Y SU CLASIFICACIÓN ETIOLÓGICA.

Una arritmia ó disrritmia, se refiere a una anomalía e irregularidad en el ritmo cardíaco, que surge como una consecuencia de una restauración del flujo sanguíneo en el tejido, posterior a una isquemia. ²

Las arritmias son resultado de una alteración en el sistema de conducción cardíaca ya sea por una producción deficiente de los impulsos eléctricos ó fallas en la conducción de los impulsos en el momento en que atraviesan el sistema. ⁷³ Estos desórdenes del ritmo cardíaco pueden generarse debido a A).-una alteración en el balance autónomo, B).- alteración electrolítica como el exceso de potasio, C).- por el uso de ciertos fármacos a dosis altas como los digitálicos, anestésicos y antidepresivos tricíclicos, el consumo de cafeína, nicotina o bebidas alcohólicas, D).- la ansiedad, E).- por alteraciones metabólicas como la acidosis, el hipertiroidismo, F).- por enfermedades miocárdicas tales como la isquemia y fiebre reumática. ¹⁷

A continuación se muestran las características asociadas a los diferentes tipos de arritmias con base a la causa que la genera. *

1.4.1.1.- RITMO SINUSAL ANORMAL.

TABLA 2: ARRITMIAS POR RITMOS SINUSALES ANORMALES

ARRITMIA	CARACTERÍSTICA
Taquicardia	Frecuencia cardíaca mayor a 100 lat. / min. Etiología: aumento de la temperatura corporal, estimulación simpática y estado tóxico del corazón.
Bradicardia Sinusal	Frecuencia cardíaca lenta con menos de 60 lat. / min. Lentitud y aceleración alternada del corazón Etiología: al aumento y disminución de la presión arterial en cada ciclo circulatorio los receptores son estimulados y deprimidos.

1.4.1.2.- BLOQUEO DE LA CONDUCCIÓN CARDÍACA.

TABLA 3: ARRITMIAS POR BLOQUEO EN LA CONDUCCIÓN DEL IMPULSO

ARRITMIA	CARACTERÍSTICA
Bloqueo Sinoauricular	El impulso del nodo SA que bloqueado antes de penetrar en el músculo auricular. Hay paro auricular. (se altera la onda P) un nuevo ritmo se genera en el nodo AV (no hay alteración en QRS-T). Es poco frecuente.
Bloqueo Auriculoventricular	Hay un bloqueo en la conducción del impulso a través de el haz de His. Etiología: isquemia de las fibras de unión auriculoventricular, compresión del Haz AV por tejido cicatrizal ó precipitación cálcica por infarto cardíaco, inflamación del Haz AV o de la fibras de unión AV.

1.4.1.3.- CONTRACCIONES PREMATURAS.

TABLA 4: ARRITMIAS POR CONTRACTURA PREMATURA

ARRITMIA	CARACTERÍSTICA
Extrasístole	Es un latido prematuro ó contracción ectópica. Etiología: isquemia, placas calcificadas que ejercen presión contra el músculo cardíaco, irritación tóxica del nodo AV sistema de Purkinje o miocardio.

1.4.1.4.- RITMOS ANORMALES DEPENDIENTES DE MOVIMIENTOS CIRCULARES.

TABLA 5: ARRITMIAS DEPENDIENTES DE MOVIMIENTOS CIRCULARES.

ARRITMIA	CARACTERÍSTICA
Fibrilación Auricular	Son debidas a alteraciones en los mecanismos de reentrada. Existe un gran número de impulsos que difunden en todas direcciones a través de las aurículas por una intensa dilatación auricular.
Fibrilación Ventricular	En el ECG es muy anormal y no suele presentarse tendencia ninguna a ritmos de algún tipo. El músculo ventricular sufre contracciones brutales que impulsan poca sangre. Etiología: por un choque eléctrico, insuficiencia coronaria o algún foco irritable por compresión de una placa aterosclerótica.
Aleteo Auricular	Contracción auricular poco frecuente y coordinada. Etiología: algún foco ectópico único o múltiple y movimientos circulares del impulso.

Es importante señalar que por lo menos una cuarta parte de todos los seres humanos mueren en fibrilación ventricular, e inclusive los corazones de la mayoría de los pacientes con un infarto coronario fibrilan poco antes de morir. Por su parte las arritmias graves originan paro cardíaco, si el corazón no puede satisfacer

sus propias demandas de oxígeno, además de las del resto del cuerpo, sin embargo es posible controlarlas y restaurar el ritmo cardíaco normal, si se detectan y tratan con prontitud suficiente.

1.5.- FARMACOTERAPIA EN ARRITMIAS.

En primera instancia la terapia empleada ante las arritmias consiste en contrarrestar los mecanismos básicos por los que se generan éstas como:

- a).- supresión de la actividad automática anormal o al menos bloqueos de los impulsos así generados, y
- b).- modificación del proceso de conducción de impulsos alterados en las áreas de daño miocárdico para así evitar la excitación reentrante y la inhomogeneidad eléctrica. Lo ideal sería actuar sobre el tejido despolarizado o enfermo, pero sin afectar el tejido normal desde el punto de vista electrocardiográfico. La utilidad de este propósito consiste en reducir el riesgo de producir efectos arritmógenos paradójicos que acompañan a la acción de ciertos antiarrítmicos ⁵⁷ ya que se ha observado que algunos fármacos antiarrítmicos tienen el potencial de generar una preexistencia a las arritmias y producir nuevas taquiarritmias. ⁷⁸

1.5.1.- ANTIARRITMICOS.

Los fármacos utilizados para restablecer o modificar el ritmo cardíaco anormal son los agentes *antiarrítmicos*, que tienen sitios específicos de acción al fijarse y bloquear, algunos selectivamente, los canales iónicos como son: a).- al canal de sodio; b).- el canal de calcio; c).- el canal de potasio. Su clasificación en este sentido ha sido la más aceptada y consiste en separar a los fármacos con base a su acción sobre las principales corrientes despolarizantes, como se indica en la Tabla 6. ^{77,78,54, 57,64,73.}

Tabla 6.- Clasificación de los antiarrítmicos (Vaughan Williams) ^{5,69,70}

CLASE	ACCIÓN	FARMACOS
IA	Bloqueo de los canales de Na. Depresión moderada de la fase 0 Conducción lenta (0+) Prolonga la repolarización	Quinidina, Procainamida, Disopiramida, Ajmalina, Cibenzolina
IB	Depresión mínima de la fase 0 Conducción lenta (0+-) Acortan la repolarización	Lidocaina Difenilhidantoina Mexiletina Tocainida
IC	Marcada depresión de la fase 0 Conducción lenta (++++) Escaso efecto sobre la repolarización	Propafenona Flecainida Lorcainida Encainida Aprindina
II	Bloqueadores Adrenérgicos Beta	Propranolol Atenolol Metoprolol Nadolol Timolol Betaxolol Butofolol
III	Prolongan la repolarización (prolongan la duración del potencial de acción).	Amiodarona Bretilio Sotalol
IV	Bloqueadores de los canales de Ca	Verapamil Diltiacem Bepridil

La clasificación de acuerdo a Vaughan Williams, ⁶⁹ como se tiene en la Tabla 6., es un sistema donde son reconocidas cuatro clases: I).- fármacos estabilizadores de membrana, II).- agentes bloqueadores beta-adrenérgicos, III).- fármacos que prolongan el potencial de acción, y IV).- antagonistas selectivos de calcio. Los agentes de la clase I, pueden ser subdivididos en tres grupos, debido a algunas diferencias en relación con las constantes de tiempo en la unión a los canales de sodio y a una acción complementaria sobre la repolarización, como se tiene en la Tabla 7. ¹⁶ Y en una quinta clase se incorporan los fármacos nuevos, cuyo mecanismo de acción aún no está bien establecido., como por ejemplo: alinidina, amafolona, benderizan, nicorandil, oxiramida, pinacidil, entre otros.

Tabla 6.- Clasificación de los antiaritmicos (Vaughan Williams) ^{6,69,70}

CLASE	ACCIÓN	FARMACOS
IA	Bloqueo de los canales de Na. Depresión moderada de la fase 0 Conducción lenta (0-+) Prolonga la repolarización	Quinidina, Procainamida, Disopiramida, Ajmalina, Cibenzolina
IB	Depresión mínima de la fase 0 Conducción lenta (0+-) Acortan la repolarización	Lidocaína Difenilhidantoina Mexiletina Tocainida
IC	Marcada depresión de la fase 0 Conducción lenta (++++) Escaso efecto sobre la repolarización	Propafenona Flecainida Lorcainida Encainida Aprindina
II	Bloqueadores Adrenérgicos Beta	Propranolol Atenolol Metoprolol Nadolol Timolol Betaxolol Butofilol
III	Prolongan la repolarización (prolongan la duración del potencial de acción).	Amiodarona Bretilo Sotalol
IV	Bloqueadores de los canales de Ca	Verapamil Diltiacem Bepridil

La clasificación de acuerdo a Vaughan Williams, ⁶⁹ como se tiene en la Tabla 6., es un sistema donde son reconocidas cuatro clases: I).- fármacos estabilizadores de membrana, II).- agentes bloqueadores beta-adrenérgicos, III).- fármacos que prolongan el potencial de acción , y IV).- antagonistas selectivos de calcio. Los agentes de la clase I, pueden ser subdivididos en tres grupos, debido a algunas diferencias en relación con las constantes de tiempo en la unión a los canales de sodio y a una acción complementaria sobre la repolarización, como se tiene en la Tabla 7. ¹⁶ Y en una quinta clase se incorporan los fármacos nuevos, cuyo mecanismo de acción aún no esta bien establecido., como por ejemplo: alinidina, amafolona, benderizan, nicorandil, oxiramide, pinacidil, entre otros.

TABLA 7: SUBCLASIFICACIÓN DE LOS FÁRMACOS ANTIARRÍTMICOS DE LA CLASE 1^{6,16}

A PROLONGACIÓN DE LA DURACIÓN DE POTENCIAL DE ACCIÓN	B ACORTAMIENTO DE LA DURACIÓN DEL POTENCIAL DE ACCIÓN	C SIN EFECTO SOBRE LA DURACIÓN DEL POTENCIAL DE ACCIÓN
Cibenzolina	Lidocaina	Encainida
Disopiramida	Mexiletina	Flecainida
Pirmenol	Fenitoína	Lorcainida
Procainamida	Tocainida	Propafenona
Quinidina		Étmozina

A pesar de contar con un arsenal de fármacos antiarrítmicos, estudios han demostrado que éstos a su vez pueden incrementar la mortalidad en algunos casos de pacientes con infarto post-miocárdico al generar taquiarritmias, como es el caso de los antiarrítmicos de la clase 1a, 1c, y III que tienden a producir taquiarritmias ventriculares e inducir a un síncope o fibrilación ventricular principalmente en mujeres cardiopáticas, por lo cual en tales eventos es recomendable una terapia concomitante con algún antiarrítmico de la clase II, de la clase IV o un digitálico que generalmente potencializan la acción antiarrítmica de el primer fármaco administrado, ^{47,52,54} debido a esta posibilidad de presentar efectos adversos se han desarrollado nuevas modalidades de tratamiento como es el uso de una terapia antitrombótica, ablación con catéter, cirugía e incluso el implante del marcapaso y desfibriladores que por medio de estimulación eléctrica pueden terminar con las arritmias. ^{11,21,39,55}

1.5.2.- DESARROLLO DE NUEVOS ANTIARRITMICOS

La trascendencia de la frecuencia patológica por arritmias ha obligado a desarrollar moléculas con óptima actividad antiarrítmica. El estudio científico en el campo de las arritmias cardíacas en las últimas décadas puede calificarse como revolucionario e impresionan las investigaciones del bioquímico y el electrofisiólogo al respecto. Estos han analizado la estructura química y la función de los canales de sodio y potasio, además de describir sus ciclos de apertura y cierre al paso de los iones. Así mismo se han descubierto moléculas algunas naturales otras sintéticas que modulan la función de cada canal iónico y que constituyen un grupo numeroso de fármacos. ^{20,40,45}

Para la producción de nuevos agentes antiarrítmicos hay diversos métodos de trabajo de investigación donde uno de los más comunes es A).- *La modificación estructural química*, que consiste en tomar una sustancia química de actividad biológica conocida, como estructura prototipo y sintetizar y probar congéneres estructuralmente análogos. Otro método es el B).- *Diseño molecular asistido por inteligencia artificial (CAMD)* de las siglas en inglés, donde está orientada hacia el descubrimiento de nuevos compuestos con propiedades específicas y dentro de las moléculas que pueden ser diseñadas por este método se encuentran los fármacos, proteínas, polímeros, catalizadores, materiales cromatográficos, pesticidas, entre otros. Es posible identificar tres áreas que conforman el proceso del diseño molecular las cuales se describen a continuación:

La química computacional; en el *nivel fundamental* se encuentra, en primera instancia, la predicción teórica de las propiedades moleculares tales como longitud de enlace, ángulos de enlace, distribución de cargas, momento dipolo, potencial de ionización, pKa's, sitios de unión en macromoléculas, energías de asociación, energía molecular, liposolubilidad, volumen molecular, entre otros. El *segundo nivel* se enfoca de manera más específica a las metas del diseño molecular, esta etapa está conformada por una serie de casos, en los cuales las técnicas de la química computacional han sido utilizados en la predicción correcta de las propiedades deseadas en un problema específico, tales como el incremento de la potencia de un fármaco o el aumento en la vida media. Otros ejemplos del segundo nivel son el hallazgo de correlaciones entre propiedades fisicoquímicas o teóricas con la actividad biológica, así como la explicación racional del por qué de la actividad o inactividad de un compuesto dado. El segundo nivel también incluye los casos donde el inicio de la investigación auxiliada por la química computacional propone un cambio en la dirección del programa de investigación. El *tercer nivel*

representa la cristalización del diseño, aquí se aplicarán los valores teóricos obtenidos en la etapa anterior, permitiendo al investigador establecer los lineamientos de trabajo, lo cual beneficia al proceso de investigación, optimizando recursos materiales y humanos. ³⁶

Los agentes antiarrítmicos presentan la estructura química general mostrada en la Fig. 3; la cual es muy similar a la de los anestésicos locales y los beta-bloqueadores. Así mismo de acuerdo al tipo de acción, los fármacos antiarrítmicos pueden ser divididos en dos grupos:

a).- fármacos estructuralmente específicos, éstos actúan formando un complejo con los receptores.

b).- fármacos estructuralmente inespecíficos, los cuales deben su acción a la acumulación de éstos en ciertas regiones de la membrana celular miocárdica causando un incremento en la presión de superficie de membrana, inhibiendo así la función biológica normal de los componentes de la membrana. ^{6,38}

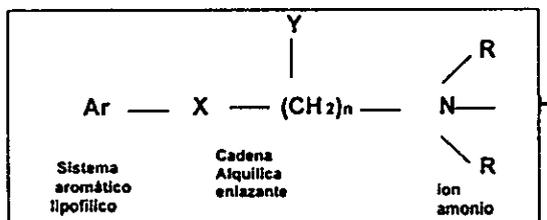


FIGURA 3: Estructura General de los fármacos antiarrítmicos.
 "Essential of Medical Chemistry". Korotkovas A. 1988.

Siguiendo esta línea de investigación el equipo de Química Medicinal de la FES-Cuautitlán se ha dedicado actualmente a la síntesis de nuevos agentes antiarrítmicos tales como los compuestos 2,6-Bis(1-piperidinimetil) fenólicos. ^{12,40}

La síntesis de los derivados piperidinil fenólicos, se realiza siguiendo el procedimiento general que se muestra a continuación en donde es posible observar ciertas modificaciones estructurales a partir de la molécula base de la changrolina:

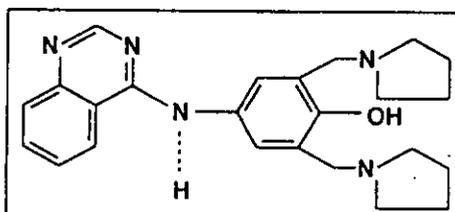


FIGURA 4: Estructura de la Changrolina.
" J. Med. Chem." (34) 1991.

Para el caso del compuesto denominado ANTIV-X se mezcla una porción molar 1:1:1, de piperidina, formaldehído y el correspondiente fenol. La mezcla se somete a reflujo y el avance de la reacción se evalúa por cromatografía en capa fina.

Para la síntesis de IGNA-1 se mezcla una DHP-16 con morfolina y formaldehído en etanol colocándola a reflujo. Mientras que para el compuesto IGNA-3 se coloca la morfolina, el formaldehído y el fenol correspondiente en etanol a reflujo.

En todos los casos el avance de la reacción se evalúa por cromatografía en columna (Hexanol-acetona). Al término de las reacciones, se procede a purificar los productos de reacción mediante diversas técnicas de separación como son: la cromatografía en columna, destilación simple, destilación fraccionada y recristalización. Los compuestos purificados se identifican por métodos electroscópicos como; Espectrometría de masas, IR, Difracción de Rayos X , entre otros.

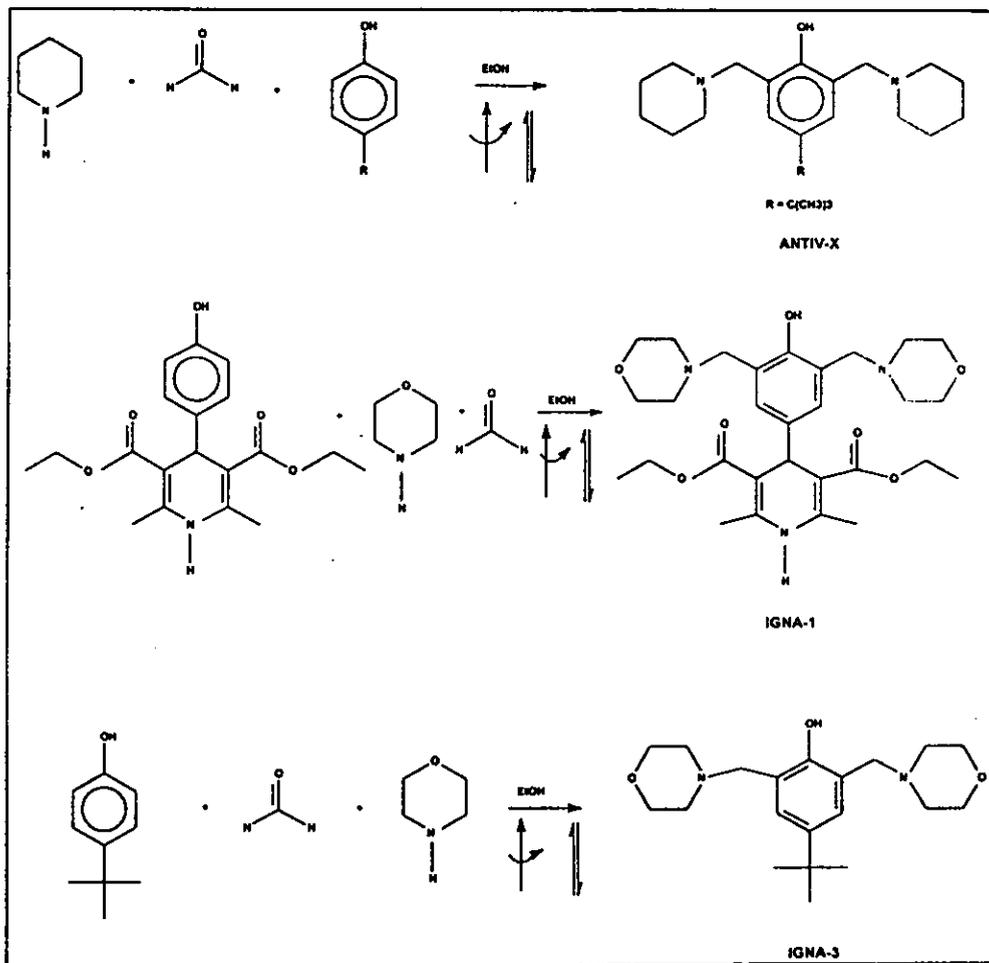


FIGURA 5: Procedimiento general de síntesis de los derivados piperidini fenólicos.

2.- PRINCIPIO DE ESTUDIO

Los avances farmacológicos en la terapia Cardiovascular han sido extraordinarios sin embargo aún la disminución del riesgo de la morbilidad y mortalidad por los efectos de un infarto miocárdico esencialmente la hipertensión y las arritmias ventriculares, sigue siendo el problema principal debido a que, son padecimientos que continúan ocurriendo con mayor frecuencia en este tipo de muerte. Por lo tanto es fundamental buscar rutas nuevas que nos lleven a la optimización de terapias y con ello a un mejoramiento en la calidad de vida de nuestra población.²⁴

Es por esto, que la necesidad de mejorar la *Farmacoterapia cardiovascular*, ha contribuido en el desarrollo de la síntesis de nuevos agentes, tales como los 2,6-Bis(1-piperidinilmetil)fenólicos, (IGNA-1, IGNA-3, ANTIV-X), que optimicen el tratamiento en este padecimiento. La valoración farmacológica nos permite caracterizar sus efectos y con ello determinar si presentan protección ante las arritmias ventriculares para lo cual es primordial contar con modelos experimentales válidos, en este trabajo se pretende determinar los efectos antiarrítmicos de los agentes fenólicos sintetizados en el Laboratorio de Química Orgánica, para cumplir con este propósito se plantearán los objetivos siguientes.

3.- OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL.

EVALUAR EL EFECTO CARDIOPROTECTOR DE LOS AGENTES FENÓLICOS MEDIANTE UN ESTUDIO A NIVEL FARMACOLÓGICO E HISTOLÓGICO EMPLEANDO EL MODELO DE ISQUEMIA-REPERFUSIÓN MIOCÁRDICA EN RATA.

3.1.- OBJETIVOS PARTICULARES.

- Evaluar el efecto de los Agentes Fenólicos (ANTIV-X, IGNA-1, IGNA-3), sobre las arritmias inducidas en el modelo de isquemia - Reperusión miocárdica en rata.
- Determinar la curva dosis respuesta de los agentes fenólicos Antiv-X, IGNA-1, IGNA-3 en el modelo experimental.
- Estudiar el efecto de los nuevos agentes fenólicos sobre la frecuencia cardiaca durante el periodo de isquemia, y el tipo de arritmias como el porcentaje de incidencia durante la reperusión.
- Realizar un análisis morfológico por medio de microscopia óptica mediante la técnica Tricrómica de Masson de los corazones extraídos post-reperusión.

4.- DESARROLLO EXPERIMENTAL

4.1.- PREÁMBULO DE EXPERIMENTACIÓN.

La elección del modelo en un estudio experimental, es parte primordial de una investigación, ya que de ello depende la obtención de resultados significativos que permitan efectuar determinaciones confiables. En este sentido los modelos biológicos más representativos son aquellos en los cuales una isquemia puede ser producido en forma consistente, cuantificable y mas sencillo en su manejo.

Existen diversos modelos *in vivo e in vitro e insitu* entre ellos; en corazón aislado, células aisladas, y animal integro. Todos ellos bien caracterizados. Ellos han sido descritos desde el punto de vista bioquímico, electrofisiológico, morfológico, fisiológico y farmacológico y han sido diferentes los agentes farmacológicos que se han estudiado en estos modelos ^{1,3,36,49,61,62,63,71} Sin embargo uno de los modelos *in vivo* que han mostrado ventajas en la generación de arritmias es el orientado a los daños ocasionados en corazón por Isquemia/Reperusión miocárdica. ^{49,50,68}

Para estel modelo de Isquemia/Reperusión, por lo general se utilizan; cerdos, perros y ratas,¹⁶ sin embargo el modelo en rata a diferencia de las otras especies, ha brindado mayor información extrapolable al humano, en relación a la morfología, bioquímica, electrofisiología así la evaluación de los farmacos en este caso resulta ser un modelo más sencillo por no requerir equipo especializado además de que su corazón es pequeño y se puede procesar ampliamente en pocas sesiones histológicas facilitando, así su cuantificación. ^{1,14,48,63}

4.2. METODOLOGÍA

4.2.1.- PREPARACIÓN DE LAS MEZCLAS

Se utilizaron dos vehículos de composición diferente para la administración de los tres agentes fenólicos, como son:

A).- vehículo: dimetilformamida + propilenglicol (0.3 : 0.7ml)

B).- vehículo: acetona+ propilenglicol (0.3 : 0.7ml)

A continuación se indica en la tabla 7, la composición de cada compuesto para su administración:

TABLA 7. PREPARACIÓN DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS.

COMPUESTO	DOSIS mg/Kg DE PESO	VEHICULO
ANTIV-X	1 Y 3.1	A
ANTIV-X	10	B
IGNA-1	1 Y 3.1	A
IGNA-1	10	B
IGNA-3	1 Y 3.1	A
IGNA-3	10	B

4.2.2.- DISEÑO EXPERIMENTAL..

Para la realización de este estudio se utilizaron ratas Wistar macho de 250 a 300 kg de peso de 8 a 10 semanas de edad, manteniéndolas bajo las mismas condiciones de alimentación y agua.

Se distribuyeron en 5 lotes siendo cada uno de 12 ratas y agrupándoles como sigue:

Lote 1).- Grupo Control Isquemia-Reperusión

Lote 2).- Grupo Control de isquemia reperusión con vehículo: en el cual se administra la mezcla de vehículo acetona+Propilenglicol para las dosis de 10mg/Kg en todos los compuestos y la mezcla de DMF+Propilenglicol para las dosis de 1mg y 3.1mg/kg.

Los lotes restantes son los lotes tratados que en cada caso se dividieron en tres subcategorías correspondientes a las dosis propuestas como sigue:

Lote 3).- Grupo tratado con Antiv-X, a la dosis de 1, 3.1, 10 mg/Kg.

Lote 4).- Grupo tratado con IGNA-1, a la dosis de 1, 3.1, 10 mg/Kg.

Lote 5).- Grupo tratado con IGNA-3, a la dosis de 1, 3.1, 10 mg/Kg.

4.2.2.1.- INDUCCIÓN DE ARRITMIAS POR ISQUEMIA Y REPERFUSIÓN MIOCÁRDICA EN LA

RATA.^{49,50,53,58}

El animal se anestesia con pentobarbital sódico (55mg/Kg de peso) vía intraperitoneal y se realiza una toracotomía y se mantiene con respiración artificial asistida por medio de una bomba palmer. Seguido esto se realiza la disección de la arteria femoral la cual es canulada por medio de un catéter de PET el cual va conectado a un transductor de presión arterial (Gould Statham) el cual va conectado a un amplificador de presión V2203A, así mismo la vena femoral se disecciona y se canula con la finalidad de poder administrar los diferentes compuestos así como el vehículo por medio de ella. Se colocan los electrodos superficiales uno en el tórax otro en la pata anterior derecha y el último de ellos en la pata inferior izquierda, todos van conectados a un amplificador para ECG V1205B. Se realiza una toracotomía y se localiza la arteria coronaria descendente anterior izquierda la cual se liga con hilo seda 6/0, por medio de una aguja atraumática junto con un tubo de plástico de 1cm de diámetro por 1cm de largo se deja por cuatro minutos y medio (periodo de isquemia), se registra la actividad ECG, cada minuto por un periodo de 30 seg. En un Polígrafo E For M/Honeywell ARG Simultrace Recorder. Posteriormente se retira la oclusión mediante el corte de la ligadura con lo que se indica el periodo de reperfusión, en este se registra la actividad cardíaca en los minutos 5,6,7,8,9 y 10 por 30 seg. en cada uno.

Para determinar el efecto antiarrítmico se siguió la misma metodología los fármacos se administrarán antes de la oclusión en un volumen de vehículo no mayor de 0.1ml por la vena.

4.2.3.- EFECTO ANTIARRÍTMICO.

Esta fase se realiza con la finalidad de determinar el efecto de los compuestos fenólicos durante la reperfusión miocárdica, utilizando los registros electrocardiográficos obtenidos en los ensayos del modelo de Oclusión-Reperfusión esto se llevo a cabo, para estudiar particularmente el efecto sobre la *frecuencia cardiaca*, durante el periodo de isquemia, (0-4min.), el *tipo de arritmias* presentadas así como el *porcentaje de incidencia* correspondiente al periodo de reperfusión, (5-10min.).

Para el *periodo de reperfusión*, se determino la actividad antiarrítmica de cada uno de los compuestos tomando en cuenta el análisis de ANOVA bajo la siguiente regla:

Es significativo, hay protección si; el valor crítico $F_c < \text{Razón de Variancia}$

No es significativo no hay protección si, el valor crítico $F_c > \text{Razón de Variancia}$.

4.2.4. CURVA DOSIS-RESPUESTA.

Con esto se determina, la relación entre el efecto antiarrítmico y la dosis de cada uno de los compuestos fenólicos estudiados, (1.0, 3.1 y 10 mg/Kg de peso).

4.2.4.1.- ESTADISTICA.

Los datos fueron tratados mediante un análisis de varianza con la prueba de Fisher.^{15,72}, para con ello determinar la dosis de mejor efecto protector.

4.3.6. ESTUDIO HISTOLÓGICO^{4, 23, 37, 77}

Con el propósito de realizar un análisis histológico de los corazones extraídos al término de cada experimento⁴¹. Para esto se utilizaron los corazones de una rata control (n=2), de rata tratada con vehiculo (n=2) y de las ratas tratadas con los compuestos respectivos a las dosis diferentes (n=2), siguiendo un tratamiento del tejido como se muestra a continuación:

FIJACIÓN.

Inmediatamente después de la extracción del corazón se cortaron transversalmente en dos por la zona media dentro de un medio de solución salina donde también es lavado y se introdujeron en buffer de formol al 10% durante 24 horas .

DESHIDRATACIÓN.

Identificando las dos partes del corte se incuban por 24 horas en alcohol al 60%, posteriormente a las dos zonas se traslada a una nueva solución alcohólica del 60% permaneciendo durante 30 minutos, siguiendo un tren de alcohol de : 70%, 80%, 96%, 100%(absoluto), permaneciendo por un periodo de 10 minutos. Finalmente se aclara con xilol donde permanecerán como intermedio para la inclusión en parafina.

INCLUSIÓN EN PARAFINA.

Los cortes se introducen en contenedores cúbicos bien identificados los cuales contienen parafina fundida a 56°C , dejándolos reposar por dos horas para tener una mayor absorción de ésta en el tejido, ya más templada la parafina se somete a refrigeración por 24 horas para la completa formación del bloque y que facilite la obtención de finos cortes, (película muy delgada), del tejido cardíaco.

CORTES.

Se realizan cortes transversales y longitudinales de la zona del ventrículo izquierdo. Cada bloque se coloca en el microtomo con un corte de grosor de 3 a 4 μm . Cada corte se introduce en un baño maría de flotación de tejidos constituido de grenetina fundida en agua destilada a 45°C, para facilitar la extensión del tejido sobre el portaobjetos. El tejido en la laminilla se seca, calentándola sobre una parrilla de 50°C durante un promedio de 15 minutos, para desprender en su totalidad la parafina al dejarla enfriar y con ello garantizar una buena adhesión del tejido al portaobjetos.

TINCIÓN TRICRÓMICA DE MASSON.

Las muestras se sumergen en Xilol en dos ocasiones por 5 minutos cada una, después pasará por un tren de alcohol absoluto, 96% y al 70% durante 5 minutos en cada caso, lavando con agua destilada por 2 minutos y se tiñen con Hematoxilina de Weigert por 10 minutos enjuagando con agua corriente y posteriormente

con agua destilada, luego se tiñen con Fuscina de Biebrich durante 5 minutos y después se sumerge en ácido fosfotúngstico y fosfomolibdico de 10 a 15 minutos pasada esta fase se tiñe con azul de anilina durante un periodo de 10 a 15 minutos pasando después por una solución de ácido acético al 1% durante 3 a 5 minutos., haciendo finalmente un tren doble para cada fase en alcohol al 96%, en alcohol absoluto y en Xilol durante 5 minutos en todos los casos , por último se le coloca un cubre objetos con resina sintética para observar al microscopio óptico.

Para la valoración del tejido lesionado se consideraron parámetros histológicos, en forma cualitativa como se presenta en la Tabla 8: clasificación del grado de severidad en cada característica observada.^{37,50}

TABLA 8: DAÑO CELULAR EN MICROSCOPIA ÓPTICA.³⁷

GRADO	CLASIFICACIÓN
GRADO 0	Cromatina dispersada, sustancias perinucleares y miofibrillas compactas
GRADO 1	Condensación y marginación mínima de cromatina, disminución de la tinción de sustancia perinucleares y miofibrillas
GRADO 2	Condensación y marginación suave de cromatina, tinción marcadamente disminuida de sustancias perinucleares.
GRADO 3	Condensación y marginación moderada de cromatina no se tiñen sustancias perinucleares y miofibrilares vacuolización ocasional.
GRADO 4	Condensación y marginación marcada de cromatina granulación ocasional y vacuolización incrementada.
GRADO 5	Cromatina nuclear oscura, citoplasma granulado y vacuolizado, pérdida de la arquitectura celular.

5.- RESULTADOS

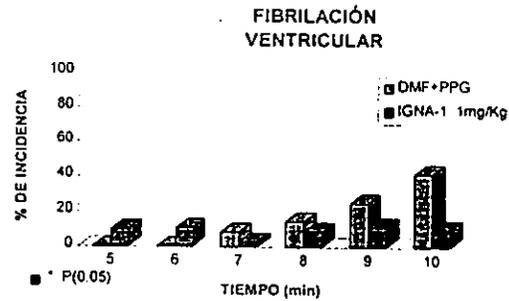
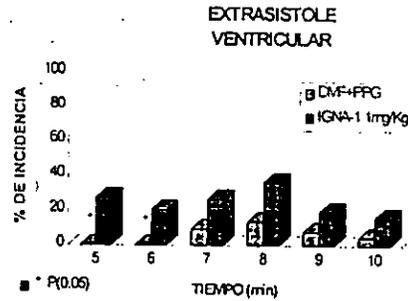
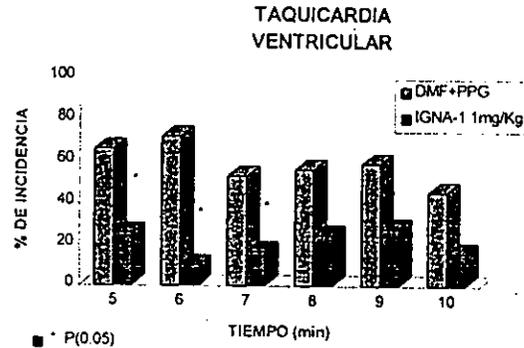
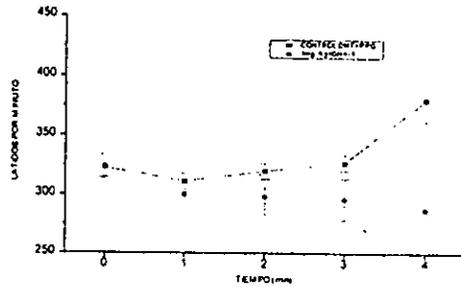
5.1.-EFECTO ANTIARRÍTMICO.

Durante los registros electrocardiográficos se observan diferencias en el comportamiento entre los grupos experimentales, en relación con los parámetros estudiados como son la frecuencia cardíaca (durante el periodo Isquémico) así como el tipo, porcentaje e incidencia de arritmias en cada caso, (durante la reperfusión), como extrasístole, taquicardia y fibrilación ventricular., considerando como referencia al grupo control con vehículo, siendo posible detectar en este caso los signos característicos en las ondas del electrocardiograma ante el evento de Isquemia y reperfusión.

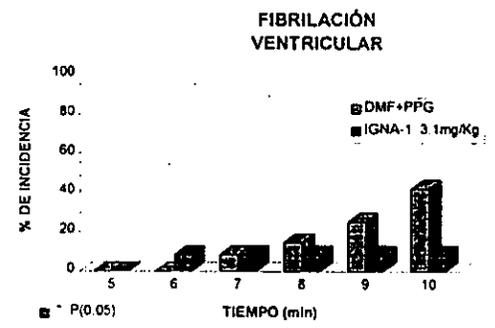
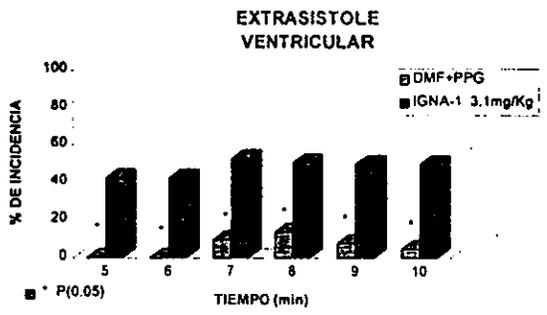
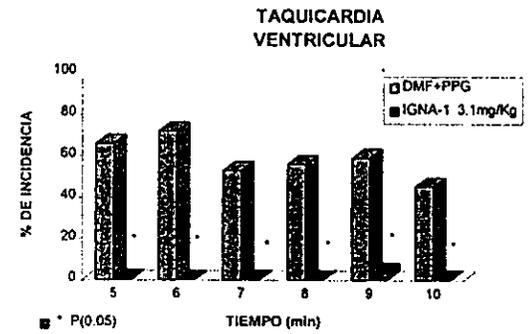
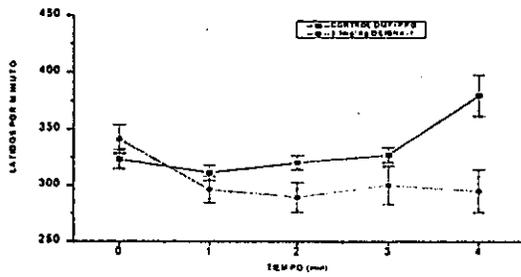
Durante la determinación gráfica del comportamiento por la isquemia/reperfusión, se muestran mediante la frecuencia cardíaca y las arritmias tales como: la taquicardia ventricular, extrasístole ventricular y fibrilación ventricular.

Los registros Gráficos 1,2 y 3., muestran los efectos antiarrítmicos del compuesto IGNA-1 en las dosis de: 1, 3.1 y 10 mg/Kg de peso en comparación con su grupo control respectivo. Iniciando con la frecuencia cardíaca para los grupos controles se observa que durante el periodo de isquemia (0 a 4min.), la frecuencia cardíaca oscila entre 324 - 380 lat./min. para el grupo control con vehículo de DMF+PPG y de 346 - 270 lat./min. para el grupo control con vehículo de acetona+PPG, mientras que en los *grupos con tratamiento* en relación a las dosis, de 1mg/Kg de peso muestra una tendencia descendente durante el periodo isquémico, en comparación a su grupo control. Para la dosis de 3.1 mg/Kg de peso la frecuencia cardíaca inicia con 340 lat./min. presentando una tendencia a disminuir en relación al grupo control y la dosis de 10 mg/Kg de peso también presenta la misma tendencia, ya que tubo índices menores a su parámetro referencial (acetona+ppg), iniciando con 316 lat./min. para terminar con 211 lat./min. Esto implica una disminución en la frecuencia cardíaca del 24.27% para la dosis de 1 mg/Kg de peso, de 22.16% para la dosis de 3.1 mg/Kg y de 34.78% para la dosis mayor de 10 mg/Kg de peso en el último punto (minuto 4).

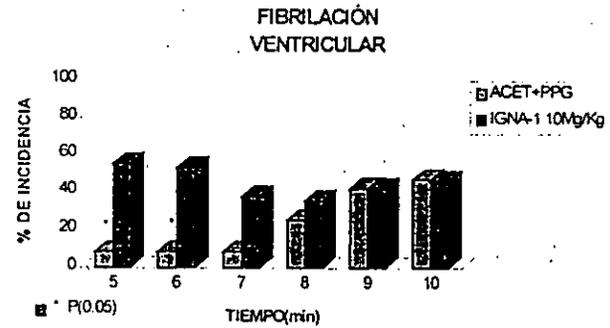
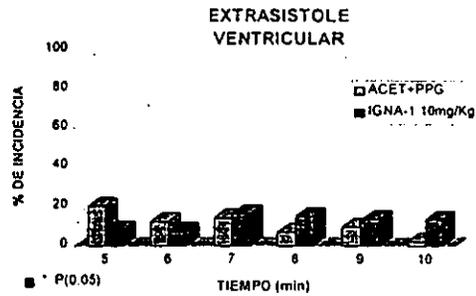
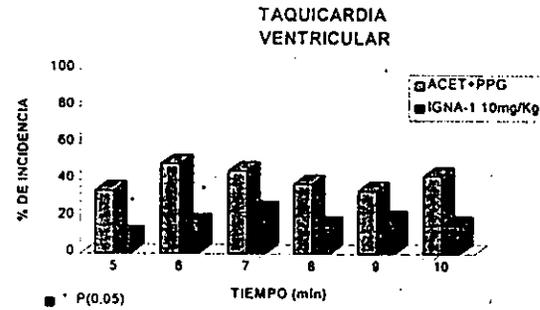
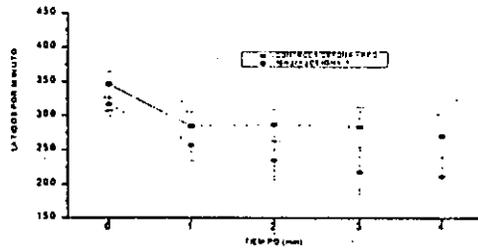
Así mismo también se tiene con respecto al efecto antiarrítmico, que está indicado como el porcentaje de incidencia de arritmias, que sólo la dosis de 3.1 mg/Kg tiene un mayor efecto protector sobre las arritmias obtenidas por la reperfusión, como son principalmente la taquicardia ventricular y la fibrilación ventricular. El porcentaje de incidencia de arritmias para el caso del grupo control con vehículo de DMF+PPG, se encuentra en un intervalo de 71.91 a 45.36% para la taquicardia ventricular de 0 a 4.63 para extrasístole ventricular y de 0 a 41.66% para la fibrilación ventricular y para el caso del grupo control con acetona+PPG, fue de 34.40 a 42.31% para la taquicardia ventricular, de 19.87 a 2.14% de extrasístole ventricular y de 8.33 a 46.06% de fibrilación ventricular., mientras que para los grupos tratados con el compuesto a las dosis de 1, 3.1 y 10 mg/Kg de peso se tiene que el porcentaje de incidencia para taquicardia ventricular es de: 25.61 a 15.94%, de 0.3158 a 0.145% y de 10.11 a 15.74%, respectivamente. Para las extrasístoles ventriculares las cuales cabe mencionar persisten en todos los casos, el porcentaje de incidencia observado en relación a las dosis y es como sigue: 27.30 a 16.22%, de 42.41 a 50% y de 7.89 a 13.24%., por último para la fibrilación ventricular el porcentaje obtenido fue de 0.54 a 9.89%, 0 a 8.33% y de 55.44 a 45.72% respectivamente a su dosis.



Esquema Gráfico 1: Actividad antiarrítmica del IGNA-1 a la dosis de 1 mg/Kg. Se observa en la gráfica lineal el efecto sobre la frecuencia cardíaca en el periodo de isquemia una disminución en comparación al grupo control y en los gráficos de barras siguientes se tiene la acción sobre los diferentes tipos de arritmias, presentando mayor efecto protector ante las taquicardia y fibrilación ventricular.



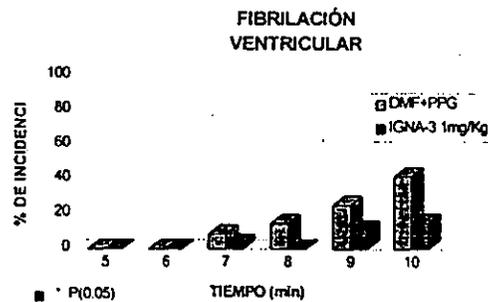
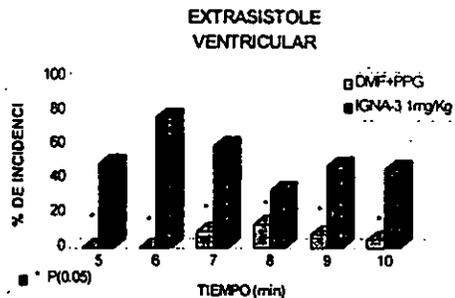
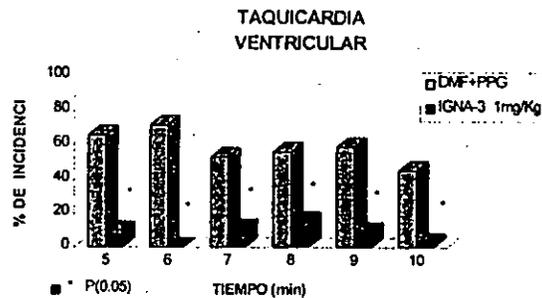
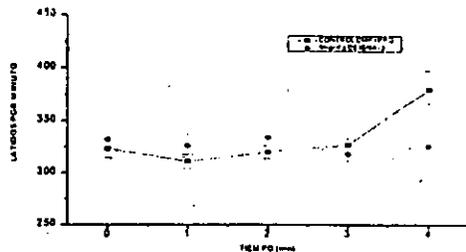
Esquema Gráfico 2: Actividad antiarritmica del IGNA-1 a la dosis de 3.1 mg/Kg. En la gráfica lineal se tiene una descendencia en la frecuencia cardiaca durante todo el evento isquémico. Las gráficas de barras indicaron una disminuci3n significativa en la taquicardia ventricular y un efecto inverso ante las extrasistoles.



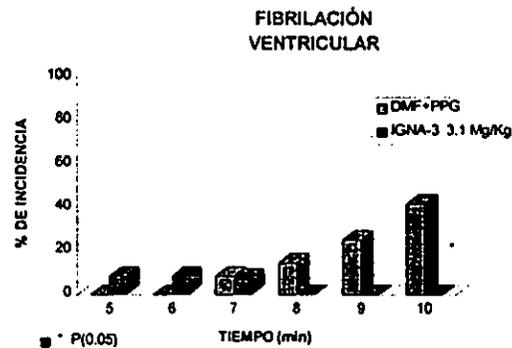
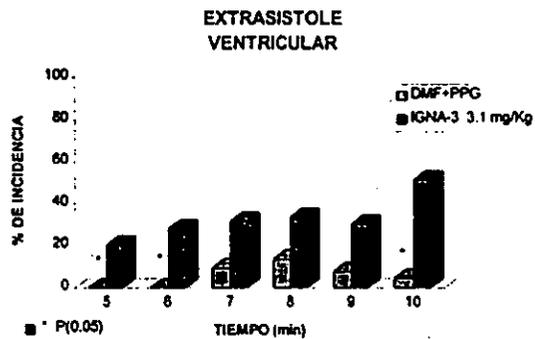
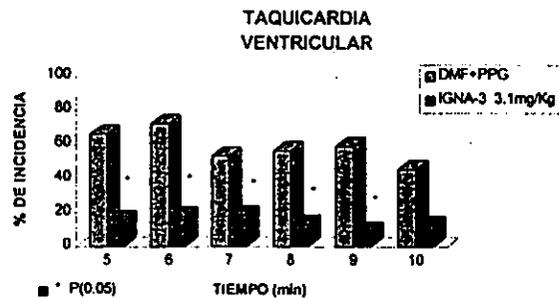
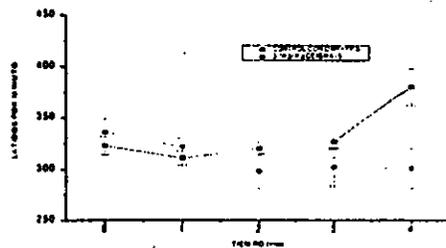
Esquema Gráfico 3: Actividad antiaritmica del IGNA-1 a la dosis de 10 mg/Kg. El gráfico lineal indica una descendencia inicial en la frecuencia cardiaca. En las gráficas de barras se observa una disminución en la incidencia de taquicardia y un efecto inverso en la extrasistole así como en los primeros minutos en relación a la fibrilación.

La siguiente descripción corresponde a los Esquemas Gráficos 4,5 y 6 que muestran el comportamiento de la actividad antiarrítmica de IGNA-3 a las dosis de 1, 3.1 y 10mg/Kg de peso, atendiendo primeramente el parámetro de la frecuencia cardiaca se tiene que para la dosis de 1mg/Kg inicio con un promedio de 332 lat./min., valor ligeramente mayor al control continuando así hasta el minuto dos para terminar con 326 lat /min lo que indica una disminución del 14.22%. Para el grupo tratado con la dosis de 3.1mg/Kg inicia igualmente con 336 lat./min. un valor ligeramente mayor al control, para continuar con una descendencia culminando con 301 lat./min lo que representa una disminución del 20.78% y finalmente para la dosis de 10 mg/Kg se inicia con 319 lat./min valor ligeramente por debajo del control continuando con un comportamiento muy similar a este. hasta terminar con un ligero aumento con 291 lat./min esto representa un efecto inverso del 7.77%.

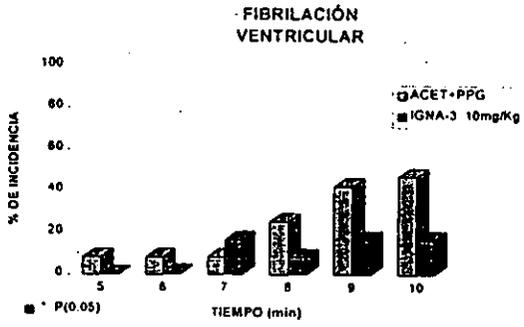
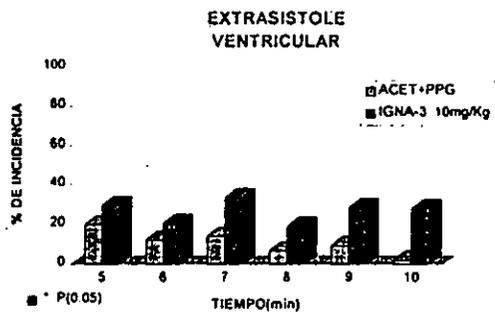
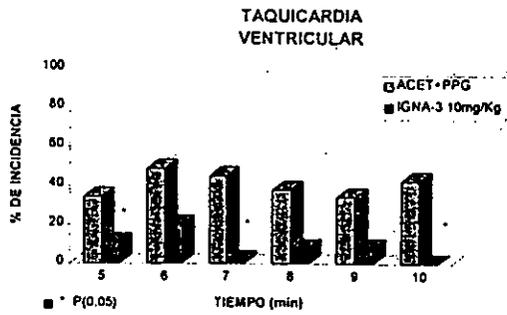
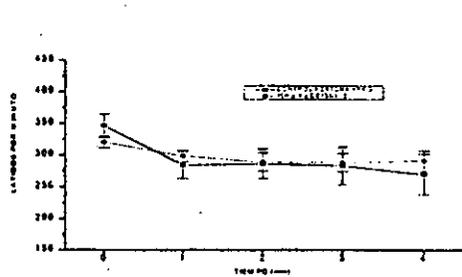
Con relación al efecto ante las arritmias, a la dosis de 1, 3.1 y 10mg/Kg de peso. los porcentajes de incidencia para la taquicardia ventricular oscilan entre: 9.82% a 2.76%, 15.64% a 12.75% y 10.94% a 0%, respectivamente. En cuestión a las extrasístoles ventriculares., es importante señalar que vemos un efecto no protector significativo al incrementarse el porcentaje de incidencia en el grupo tratado con respecto a su control en todos los casos, con intervalos que fluctúan entre 49.92% a 46%, 20.26% a 51.26% y 29.75% a 28.33% y para las fibrilaciones ventriculares las cuales se mantienen disminuidas comparándose al control principalmente a la dosis de 3.1mg/Kg, como se muestra en los siguientes intervalos obtenidos: 0% a 15.1%, 8.33% a 0% y 0% a 16.66%



Esquema Gráfico 4: Actividad antiarrítmica de IGNA-3 a la dosis de 1 mg/Kg de peso. El gráfico lineal presenta la frecuencia cardíaca con un comportamiento similar al control durante los 3 min finalizando con un descenso en el grupo tratado. Los gráficos de barras indican una disminución principalmente en taquicardias y fibrilación ventricular.



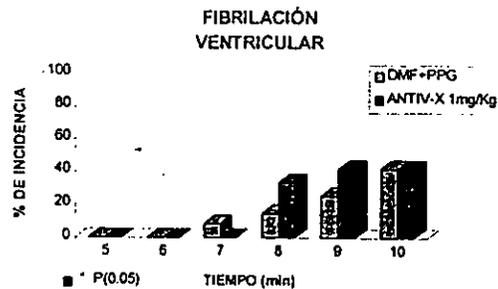
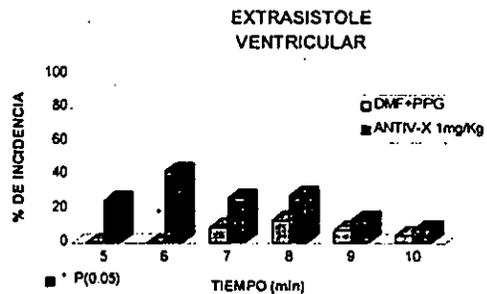
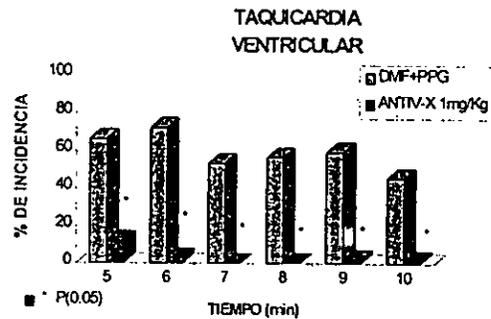
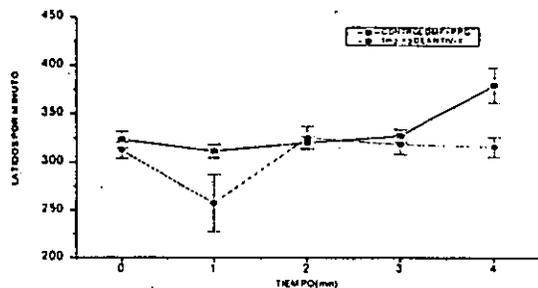
Esquema Gráfico 5: Actividad antiarrítmica de IGNA-3 a la dosis de 3.1 mg/Kg de peso. La frecuencia cardiaca representada en el gráfico lineal indica una disminución sostenida hasta el final del seguimiento a partir del minuto dos. Las gráficas de barras muestran una disminución significativa en las taquicardias y fibrilaciones ventriculares con un efecto inverso en las extrasístoles.



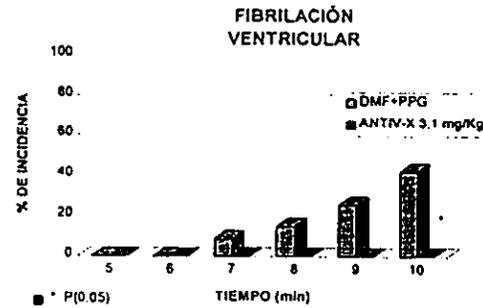
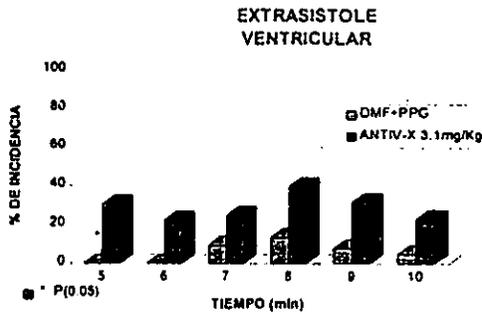
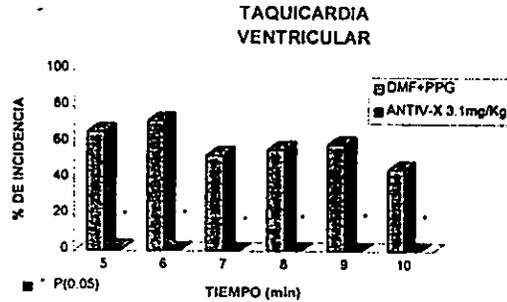
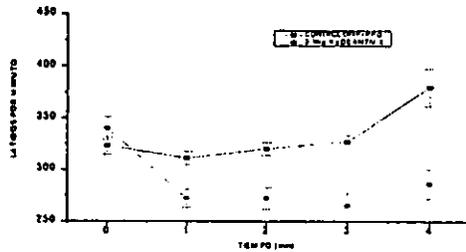
Esquema Gráfico 6: Actividad antiarrítmica de IGNA-3 a la dosis de 10 mg/Kg de peso. La gráfica lineal nos muestra una frecuencia cardíaca similar entre los dos grupos finalizando con un aumento el grupo tratado. Los gráficos restantes representan la incidencia de arritmias con una disminución en la fibrilación y significativamente en las taquicardias

La representación gráfica de la actividad antiarrítmica del compuesto ANTIV-X, se muestra en los Esquemas Gráficos 7, 8 y 9, donde se muestra como primer parámetro, a la frecuencia cardíaca. Para el grupo tratado con la dosis de 1 mg/Kg, se mantuvo un comportamiento paralelo durante los primeros minutos del evento isquémico entre ambos casos iniciando con un índice de 313 lat./min y finalizando con un descenso de 316 lat./min dando por ende una disminución del 16.84%. Para la dosis de 3.1 mg/Kg, comenzó por arriba del control con un valor promedio de 340 lat./min para continuar con una brusca disminución de 257 lat./min tendencia que se mantuvo hasta el término con un índice de 286 lat./min. implicando una disminución del 24.73%. A la dosis de 10 mg/Kg se mantuvo una tendencia muy similar entre ambos grupos de comparación durante todo el periodo isquémico iniciando con 336 lat./min y culminando con 280 lat./min lo que representa realmente un aumento en la frecuencia cardíaca del 3.70%, para este grupo de tratamiento.

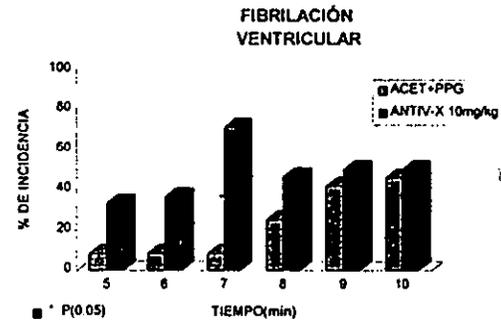
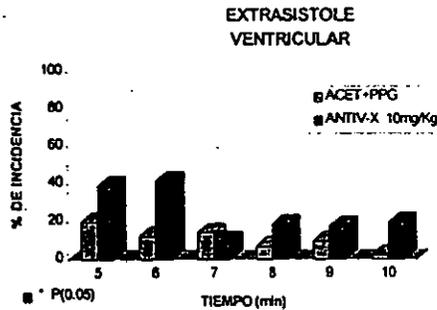
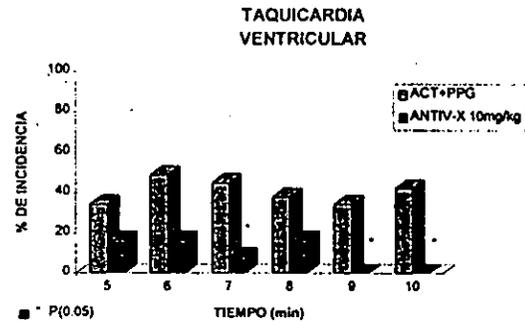
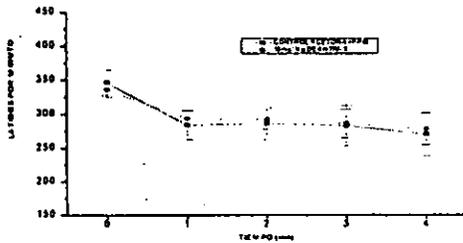
Con respecto a la actividad sobre las arritmias, en el orden acostumbrado de las dosis trabajadas en el estudio se obtuvo una disminución significativa en las taquicardias ventriculares para 1mg/Kg de peso con un rango que oscila entre 11.96% a 1.04%, para la dosis de 3.1mg/Kg de peso la existencia de taquicardias fue casi nula oscilando entre 1.48% a 0%, y para la dosis de 10 mg/Kg el porcentaje oscilo entre 16.66% a 0%. Para el caso de las extrasístoles estas se presentaron en todas las dosis con un aumento importante en los grupos tratados como se indica a continuación; 25% a 8.18%, 30.35% a 22.83% y 39.07% a 19.44%. La fibrilación ventricular sólo fue posible disminuirla significativamente a la dosis de 3.1 mg/Kg manteniendo un 0%, los valores promedio para la dosis de 1mg/Kg fueron de 0% a 41.66% y de 33.33% a 50% para el grupo tratado a 10 mg/Kg.



Esquema Gráfico 7: Actividad antiarrítmica de ANTIV-X a la dosis de 1 mg/Kg de peso. La frecuencia cardíaca se representa con la gráfica lineal teniéndose en este caso una tendencia descendente. Las arritmias se muestran en los gráficos de barras obteniendo un efecto favorable ante las taquicardias ventriculares.



Esquema Gráfico 8: Actividad antiarrítmica de ANTIV-X a la dosis de 3.1mg/Kg de peso. El gráfico lineal representa el comportamiento de la frecuencia cardíaca mostrando una tendencia descendente en todo el evento. Las gráficas de barras muestran el comportamiento sobre las arritmias siendo el más favorable para las taquicardias y la fibrilación ventricular.



Esquema Gráfico 9: Actividad antiarrítmica de ANTIV-X a la dosis de 10 mg/KG de peso. Se observa en la gráfica lineal una tendencia similar entre los grupos, finalizando con un ligero ascenso en la frecuencia cardiaca. También se tiene a los efectos sobre las arritmias en los gráficos de barras, siendo más representativo el caso de las taquicardias ventriculares.

5.2.- RESULTADOS HISTOLÓGICOS.

En este ámbito se efectúan análisis cualitativos, comparando así las características tisulares entre los grupos control con vehículo y los grupos tratados. Entre ellos se encuentran diferencias claras como son: adelgazamiento de la fibra y lisis celular, infiltración de células inflamatorias, hemorragia, ondulamiento fibrilar, necrosis coagulativa, pericarditis, espacio interfibrilar aumentado con fragmentación miofibrilar. Se considero como *tejido lesionado* al porcentaje de fragmentación miofibrilar, siendo este el parámetro principal en la medición morfológica, en base a la prueba de proporciones ⁶⁷. La dosis de 1 mg/Kg muestra un mayor porcentaje de tejido lesionado en el caso tratado con ANTIV-X comparado con IGNA-1 e IGNA-3, esto se observa en la gráfica 10. La dosis de 3.1 mg/Kg de peso, indica menor porcentaje de daño, lo que implica un efecto favorable para el caso tratado con ANTIV-X y se representa para los diferentes compuestos en la gráfica 11. La dosis de 10mg/Kg de peso se expone en el Gráfico 12, en donde sólo se obtuvo un efecto propicio para los sujetos tratados con IGNA-3, y menos favorable para los casos de IGNA-1 y ANTIV-X entre ellos sin embargo es claro observar como en todas las dosis de trabajo el control con vehículo manifestó el mayor porcentaje de tejido dañado lo cual implica una débil protección por parte de la mezcla de vehículos utilizada en cada caso (DMF+PPG y ACETNA+PPG). Todo esto es posible visualizarlo de manera más completa en el Cuadro que muestra las características morfológicas más relevantes encontradas a nivel celular según las observaciones de las laminillas durante el ensayo en todos los casos trabajados. En general podemos decir que para las dosis de 1,3.1 y 10mg/Kg, el porcentaje de tejido lesionado por parte de IGNA-1 fue menor en relación al grupo control.

GRÁFICO 10: TEJIDO DAÑADO A LA DOSIS DE 1 mg/Kg..

El gráfico representa los porcentajes de fragmentación fibrilar de todos los grupos estudiados a la dosis de 1mg/Kg de peso, contra su respectivo control con vehículo., donde se puede observar que el grupo con IGNA-3, es quien presenta mayor protección a dicha dosis.

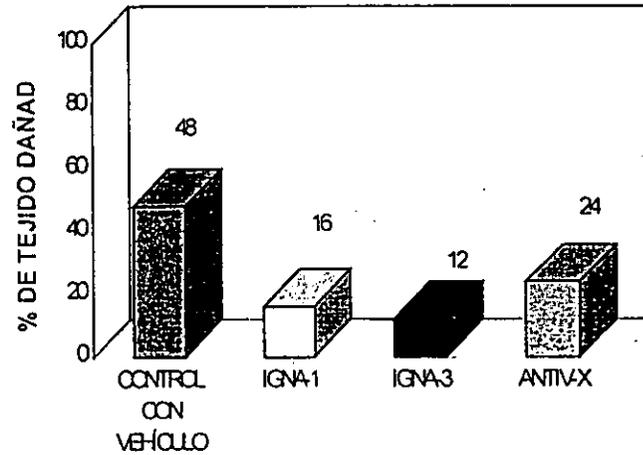
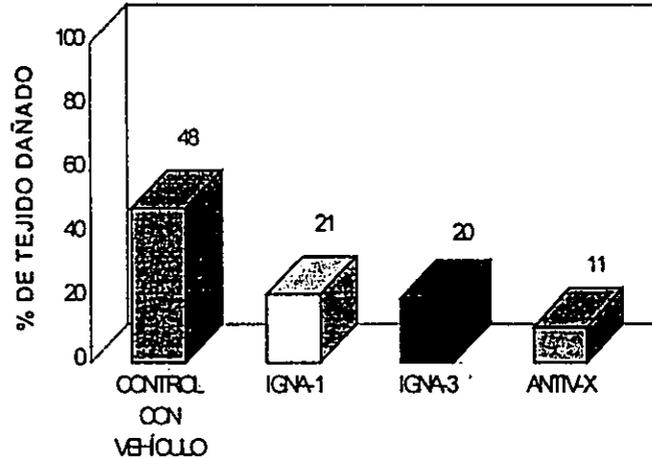


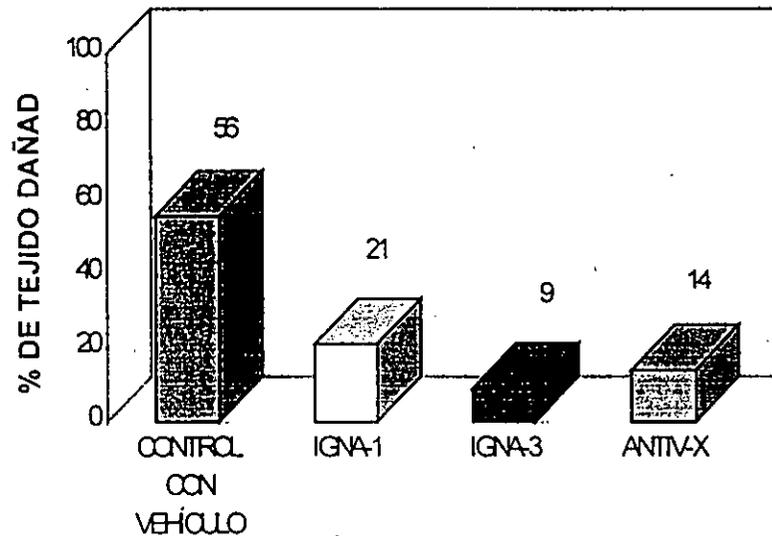
GRÁFICO 11: TEJIDO DAÑADO A LA DOSIS DE 3.1 mg/Kg.

En esta gráfica se presentan los valores de los porcentajes obtenidos de la fragmentación fibrilar de los grupos tratados y control correspondiente, en el cual se muestra como ANTIV-X cuenta con el mayor efecto protector a nivel celular a la dosis de 3.1mg/Kg, mientras que por su parte tanto IGNA-1, como IGNA-3, guardan un comportamiento muy similar entre ellos.



GRÁFICA 12: TEJIDO DAÑADO A LA DOSIS DE 10mg/Kg.

En el presente gráfico se muestran los porcentajes de fragmentación miofibrilar a la dosis de 10mg/Kg de los grupos tratados con respecto a su control y vemos como el grupo que recibió IGNA-3, tiene un comportamiento más favorable, al presentar el menor porcentaje de daño celular.



CUADRO DE CAMBIOS MORFOLÓGICOS OBSERVADOS.

LOTES DE TRABAJO	ONDULAMIENTO Y LISIS MIOFIBRILAR	HEMORRAGIA	GRANULACIÓN	FRAGMENTAIÓN MIOFIBRILAR *
CONTROL SANO	0	+	0	0
CONTROL INFARTADO	++	+++	+	+++
CONTROL DMF+PPG	++	++	+	+
CONTROL ACET+PPG	++	++	+	++
IGNA-1 1 mg/Kg	++	+++	+	+++
3.1 mg/Kg	+	++	+	++
10 mg/kg	++	+++	++	+++
IGNA-3 1 mg/Kg	++	++	+	+++
3.1 mg/Kg	+	++	0	++
10 mg/Kg	+	+++	0	++
ANTIV-X 1 mg/Kg	++	++	+++	+++
3.1mg/Kg	+	++	+++	++
10 mg/Kg	++	+++	+++	+++

0 AUSENTE
+ POCO
++ MODERADO
+++ SEVERO

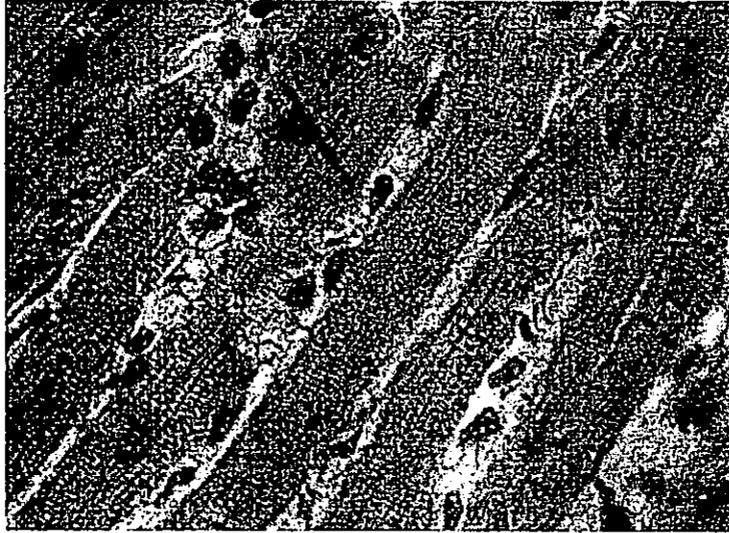
La Fotografía (1), muestra al músculo cardíaco del Grupo Control, el cual muestra las características típicas del tejido cardíaco (miocito), normal como se observa en la disposición regular de las fibras, siendo columnar alargada y ramificada, presentándose en una proporción mucho mayor de fibras musculares en relación al tejido conectivo, con un ondulamiento poco apreciable, proliferación de células inflamatorias ocasionales, pero la estructura de las miofibrillas es continua no encontrándose un daño significativo que lo amerite ser clasificado con base a la Tabla 8.

Por su parte las fotografías (2) y (3), en ambos casos se trata de tejido cardíaco del grupo control con vehículo DMF+PPG y ACETONA+PPG respectivamente, donde se muestra que para (2) se descubre un ligero ondulamiento miofibrilar, con inflamación y proliferación de células de este tipo, así como hemorragia y granulación miofibrilar lo que le da un grado de daño cuatro por la presencia de granulación ocasional. Para la foto(3) se exhiben pérdida de miofibrillas y estriación con intensa granulación, proliferación de células nucleares y hemorrágicas, cromatina nuclear oscura con una pérdida total de la arquitectura celular lo que le confiere un grado de daño 5 con base a la Tabla 8.

La fotografía (4) corresponde al grupo con Oclusión/Reperusión tratado con IGNA-3 (1mg/Kg), que manifiesta ondulamiento y lisis fibrilar, hemorragia, proliferación de células inflamatorias con degeneración ocasional vacuolar de las miofibrillas que de acuerdo a la Tabla 8 el daño obtenido corresponde al grado 3.

La fotografía (5), corresponde a un corte transversal de músculo cardíaco del grupo tratado con IGNA-1 (3.1mg/Kg), quien presentó una clara necrosis alveolo vacuolar con destrucción del patrón celular y fragmentación celular, hemorragia vinculando con el grado de daño 5.

La fotografía (6), expone un corte transversal del músculo cardíaco de rata, representante al grupo tratado con ANTIV-X (3.1mg/Kg), donde hay una moderada separación miofibrilar, ligero ondulamiento, con cariólisis y hemorragia zonal y liberación de células inflamatorias dando un grado de daño 3 con base a la Tabla 8.



Fotografía 1. Corte transversal de Músculo Cardíaco de Rata del Grupo Control Sano.

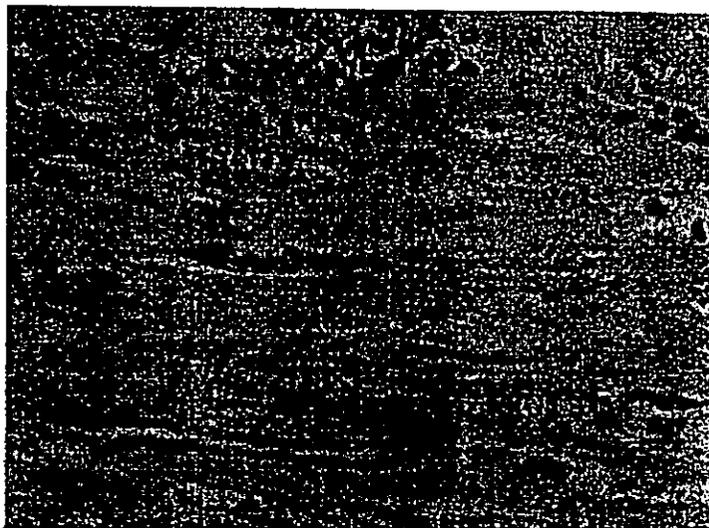
Tinción Tricrómica de Masson 40X.



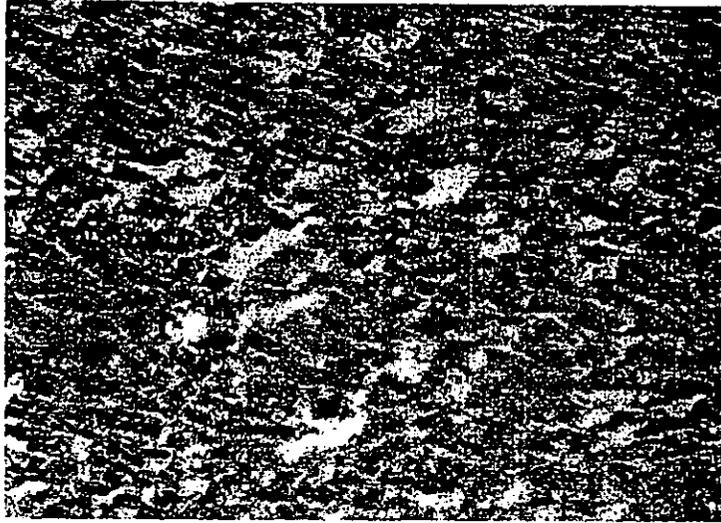
Fotografía 2: Corte Transversal de Músculo Cardíaco de rata del Grupo Control con Vehículo(Dimetilformamida + Propilenglicol). Tinción Tricrómica de Masson 40X.



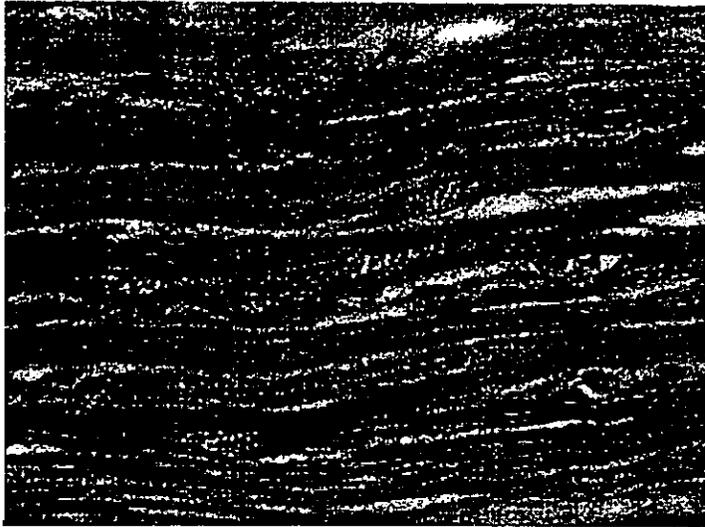
Fotografía 3. Corte transversal del Músculo Cardíaco de Rata del Grupo Control con Vehículo (Acetona + Propilenglicol). Tinción Tricrómica de Masson 40X



Fotografía 4. Corte transversal de Músculo Cardíaco de rata del Grupo tratado con IGNA-3 Tinción tricromica de Masson 40X.



Fotografía 5. Corte Transversal de Músculo Cardíaco de Rata del Grupo Tratado con IGNA-1. Tinción Tricromica de Masson 40X



Fotografía 6. Corte Transversal de Músculo Cardíaco de Rata del Grupo Tratado con ANTIV-X. Tinción Tricrómica de Masson 40X.

6.-DISCUSIÓN

Recientemente se han reportado diversos estudios sobre los daños inducidos por reperfusión generando particularmente por arritmias ventriculares, así como cambios bioquímicos, electrocardiográficos y estructurales del tejido cardíaco ^{29, 74}. La consecuencia desfavorable y potencialmente letal del reflujo es la inducción de arritmias por la reperfusión, sin embargo razonablemente nosotros utilizamos esta característica en el desarrollo experimental, puesto que si no es un modelo de lo que sucede exactamente en el hombre con padecimientos cardiovasculares, si cubre los eventos post-isquémicos más significativos que se presentan en la clínica, siendo con ésto una simulación idónea que representa precisamente el sistema que se desea estudiar y que nos permite evaluar los efectos de los agentes fenólicos no sólo a nivel electrocardiográfico, sino también a nivel histológico e inclusive bioquímico si se desea continuar investigando los posibles mecanismos de acción teniendo con ello un estudio más completo.

En general a *nivel electrocardiográfico*, observamos que *durante el periodo isquémico*, los agentes fenólicos disminuyeron la frecuencia cardíaca hasta en un 34.78%. En esencia los grupos tratados con la dosis de 3.1mg/Kg de peso presentaron una diferencia significativa en la disminución de la frecuencia cardíaca con una $p < 0.05$, mientras que a las dosis de 1mg y 10mg/Kg de peso se mantiene en los diferentes grupos no significativos. Se considera que la tendencia a disminuir la frecuencia cardíaca en todos los casos, puede estar relacionada con una probable acción parasimpaticolítica, debido a que se ha reportado que la changrolina así como algunos de sus derivados que se caracterizan por tener sustituyentes en la molécula aromática, así como de otros agentes antiarrítmicos de la clase 1, presentan esta cualidad. ^{45,46}

En el periodo de reperfusión, se determinó la actividad antiarrítmia de cada uno de los compuestos tomando en cuenta el análisis de ANOVA y encontramos que los agentes fenólicos tienen una potente acción antiarrítmica principalmente en relación a las taquicardias y fibrilaciones ventriculares, particularmente durante

los primeros minutos del reperfusión,(5,6,7min) con lo que se propone que a su vez cuenten con un efecto antiarrítmico fugaz, cualidad que también ha sido reportada para diversos fármacos antiarrítmicos de la clase 1 como lo es en el caso de la flecainida.⁶⁶

Al realizar el análisis de los diferentes grupos, sobre la acción protectora en las taquicardias ventriculares, obtuvimos lo siguiente: para el grupo tratado con IGNA-1 a la dosis de 1mg/Kg de peso, hay efecto protector con una diferencia significativa en comparación al grupo control en los primeros minutos ,5.6 y 7.. siendo $F_c = 4.30 < R.V. = 6.33$, $F_c = 4.30 < R.V = 52.03$, $F_c = 4.30 < R.V = 11.59$., respectivamente. A la dosis de 3.1mg/Kg de peso, hay una diferencia significativa durante todo el periodo (5,6,7,8,9 y 10min.), dado que; la R.V. = 31.58, 95.36, 6.30, 30.11, 17.24, 10.44 mientras que se obtuvo un valor de $F_c = 4.30$., por lo tanto a esta dosis hay una actividad protectora significativa con una $\alpha = 0.05$. Finalmente a la dosis de 10mg/Kg de peso, hay protección significativa, sólo en los minutos 5 y 6 con una R.V. = 5.59 y 5.29 contra una $F_c = 4.30$. Para el caso de IGNA-3; tanto a la dosis de 1mg/Kg como a la 3.1mg/Kg de peso, hay una diferencia significativa durante todo el seguimiento a excepción de la dosis de 10mg/Kg de peso., donde sólo en el minuto 5,7 y 10 se obtuvo lo siguiente., $F_c = 4.30 < R.V = 4.55$, 11.54 y 9.96, respectivamente. Los grupos tratados con ANTIV-X, hay protección con un alto nivel de significancia durante todo el evento, para las dosis de 1 y 3.1mg/Kg de peso, donde se tiene; $F_c = 4.30 < R.V. = 13.64, 47.87$, 30.42, 18.97, 9.97., y $F_c = 4.30 < R.V. = 30.31$, 93.79, 47.69, 30.42, 24.56, 10.50. En cuestión a la dosis de 10 mg/Kg de peso, sólo en los minutos 7, 9 y 10 hay protección con significancia con una R.V. = 5.91, 6.91, 9.96. Con los resultados anteriores podemos decir que los diferentes grupos a la dosis de 3.1mg/Kg de peso muestran un mejor efecto antiarrítmico con un nivel de significancia de 0.05%.

Realizando el análisis para las extrasístoles ventriculares, se pudo determinar que el grupo con IGNA-1, sólo a la dosis de 1 y 10mg/Kg de peso, el porcentaje de incidencia es menor en comparación a la dosis de 3.1mg/kg, aunque se encuentran por arriba de los valores del control, con un nivel de significancia de efecto adverso de R.V. = 6.70, 5.35 (minuto 5 y 6); 10.81, 10.48, 9.86, 6.89, 7.44, 8.64; 3.28, 0.58, 0.036, 0.79, 0.15, 1.56, con una $F_c = 4.30$. Para IGNA-3, a la dosis de 1 mg/Kg de peso, todo el periodo de reperfusión existió un efecto adverso significativo al obtener una $F_c = 4.30 < R.V = 19.56$, 40.57, 14.24, 2.99, 11.79, 11.10 y para 3.1

mg/Kg de peso, la significancia del efecto adverso se presento en el minuto de 5,6 y 10 con $F_c = 4.30 < R.V. = 5.44, 7.29, 3.013$. En los tratamientos con ANTIV-X hay significancia de efecto adverso en el minuto 6, a la dosis de 1 mg/Kg de peso, con $F_c = 4.30 < R.V. = 9.68$. Con base a estos resultados observamos claramente que no existe una acción protectora sobre las extrasistoles ventricular.

Apoyándonos en estudios farmacológicos ⁴⁴ de los antecesoros químico estructurales de los agentes fenólicos, nos explicamos que la persistencia de las extrasistoles en todos los grupos que recibieron tratamiento, es probablemente, a que los agentes fenólicos (IGNA-1, IGNA-3 y ANTIV-X), probados en este trabajo, guardan, ciertas cualidades como son la actividad parasimpaticolitica y anticolinergica. La acción parasimpaticolitica genera la inhibición de ciertas funciones en el sistema nervioso autónomo como puede ser alteraciones en las propiedades básicas de la célula cardíaca entre ellas el automatismo, contractibilidad y tono que no permiten un restablecimiento total de la célula post-isquémica, prevaleciendo así las extrasistoles en todos los casos de tratamiento.

En relación al efecto sobre *fibrilación ventricular*, para IGNA-1 a la dosis de 10 mg/Kg de peso, hubo diferencia significativa de efecto adverso, en el minuto 5 y 6 con $F_c = 4.30 < R.V. = 8.02$ y $F_c = 4.30 < R.V. = 7.34$. Y para ANTIV-X a 3.1mg/Kg se obtuvo $F_c = 4.30 < R.V. = 7.85$ al minuto 10 y a la dosis de 10mg/Kg de peso, al minuto 7, $F_c = 4.30 < R.V. = 16.78$. E IGNA-3 a la dosis de 3.1 mg/kg en el minuto 10 indico un efecto protector significativo con $F_c = 4.30 < R.V. = 7.85$. Estos resultados nos indican que, se presento una disminución significativa en casi todos los casos, excepto para IGNA-1 y ANTIV-X a la dosis de 10 mg/Kg de peso y que el mayor efecto protector fué a la dosis de 3.1mg/Kg de peso.

Los agentes fenólicos mantienen ciertas características estructurales comunes (fenol sustituidos), lo que es responsable de una respuesta biológica análoga entre ellos; sin embargo a pesar de las variaciones en la estructura química con respecto a su estructura base, (Changrolina), generaron una actividad farmacológica similar a la de ésta según sus reportes de la actividad farmacológica, con lo cual nosotros proponemos que estructuralmente contamos con *agentes específicos*, donde la parte biofuncional según la clasificación de Ariens, es el grupo fenólico sin olvidar que la presencia de una parte específica en la estructura no significa que necesariamente la molécula posea una actividad biológica concreta ya que esta actividad depende de la

molécula en conjunto con lo que mantenemos la hipótesis de que el grupo fenólico si sea la zona biofuncional, pero no obligadamente esencial. Sin embargo para poder contar con una determinación más certera sobre la zona específica responsable de la actividad biológica se requiere de investigaciones de tipo fisicoquímico en relación a la estructura-actividad biológica con auxilio de los modelos cuanticos, matemáticos, de polarización, distribución electrolítica y conformación entre otros.

Por su parte otras investigaciones morfológicas ⁷⁶, demuestran como el daño inducido por la reperfusión causan lesiones letales en el tejido cardiaco, al acelerar el proceso de necrosis celular y los principales eventos que genera la reperfusión con base a estos reportes son: Inclusiones en el sarcolema, inflamación celular severa, contractura acelerada por filtración de enzimas y electrolitos, daños microvasculares como la hemorragia características que fueron observadas tanto en los grupos control como en los que recibieron el tratamiento principalmente a la dosis de 10mg/kg de peso. Esto nos ayuda a corroborar que los vehiculos utilizados en el ensayo no tienen efecto protector alguno haciendolos adecuados para el tema de estudio. La hemorragia fue una de las cualidades que predominaron en todos los casos debido a que los compuestos estudiados demostraron una débil acción contra esta manifestación morfológica haciendola un parámetro morfológico importante para sustentar el posible mecanismo de acción de estos agentes fenólicos., ya que ante la reperfusión existe un intercambio iónico súbito entre el calcio y el sodio que genera una inchazón celular y hemorragia ⁷⁴. Con esto postulamos que los compuestos fenólicos actúan bloqueando los canales de sodio en la célula, lo que desencadena a su vez una conducción lenta lo que descubre un rasgo también importante que es la correlación que hemos observado entre la fragmentación miofibrilar persistente aún que en diferente grado, en todos los casos tratados y la presencia de arritmias lo que se confirma con el proceso de alteración de los mecanismos de conducción del impulso eléctrico, por la obstrucción del mensaje eléctrico a nivel del nodo sinusal (marcapaso), perderse la comunicación interfibrilar de los miocitos, es por la necrosis de estos, debido a la acumulación sobre las vías del transporte eléctrico células inflamatorias y hemorrágicas., de acuerdo a lo obtenido en el ámbito electrocardiográfico e histológico en los resultados.

7.- CONCLUSIONES

1. El modelo experimental de isquemia y reperfusión miocárdica nos permitió determinar el efecto antiarrítmico y morfológico de diferentes compuestos fenólicos.
2. En la mayoría de los agentes fenólicos probados, se mostró una disminución en la frecuencia cardíaca, en proporciones distintas.
3. Se determinó la actividad antiarrítmica de los diferentes compuestos fenólicos, siendo IGNA-3 el compuesto con mayor efecto seguido del IGNA-1 y ANTIV-X. Principalmente su efecto se dio sobre las taquicardias ventriculares y las fibrilaciones ventriculares.
4. La dosis antiarrítmica más efectiva que presentaron los compuestos fenólicos fue de 3.1 mg/Kg de peso.
5. Por estudios teóricos se hace hincapié que el grupo fenólico es la zona importante funcional como antiarrítmico.
6. Es importante continuar con el análisis de estructura química- acción farmacológica con la finalidad de obtener otros análogos que teóricamente sean más efectivos y que estos pudieran ser sintetizados y probados biológicamente y así obtener fármacos antiarrítmicos más específicos y selectivos.

8.- BIBLIOGRAFIA

- 1 A. De Meester, J. M., Chaudron and L. De Roy. Usefulness of Isoproterenol in The Induction of Clinical Sustained Ventricular Tachycardia during Electrophysiological Study. *Acta cardiologica*. LII: 67-74, 1997.
- 2 Allan S. Manning and David J. Hearse. Reperfusion-Induced Arrhythmias: Mechanisms and Prevention. *J. Mol. Cell Cardiol*. 16: 497-518, 1984.
- 3 Anton P.M. Gorgels MD., PhD, Adri Van Den Dool, Anton Hofs. Comparison of Precainamide and Lidocaine in Terminating Sustained Monomorphic Ventricular Tachycardia. *Am. J. Cardiol*. 78: 43-47, 1996.
- 4 Anversa P., Loud A.. *Biology of Disease: Morphometric Analysis of Biology Processes*. 50(30): 250-261, 1984.
- 5 A. Houssay Bernard. *Fisiología Humana*. 5a. Edición, edit. El Ateneo, 1980.
- 6 Augustus O. Grant, Jr., MD., Phd Durham N. C.. On The Mechanism of Action of Antiarrhythmic Agents. *Am. Heart J*. 123: 1130-1136, 1992.
- 7 Bailey B. R. III Berlin, K.D.. Synthesis Conformational analysis and antiarrhythmic Properties of 7-benzyl-3-thia-7-azabicyclo[3.3.1]nonane hydroperchlorate and 7-benzyl 9-phenyl-3-thia-7-azabicyclo[3.3.1]-nonan-9-ol-hydroperchlorate and derivatives. *J. Med. Chem*. 27: 758-767, 1985.
- 8 Bayes de Luna A. Textbook of Clinical Electrocardiography. *Martinus Nijhoff. Publishers*, 1993.
- 9 Bayés de Luna A., Iturralde P.. *Arritmias Cardíacas*. Chavez Rivera I. *Cardiología México*, Edit. Panamericana, 1993.
- 10 Benchan MD. MPH. MPA., Peter Coyte Phd, Caroline Heick MBA. Economic Impact of Cardiovascular Diseases in Canada. *Can. J. Cardiol*. 12 (10) 1996.
- 11 Bogun Frank MD. Marwan Bahu MD. Bradley P. Knight MD.. Comparison of Effective and Ineffective target sites that demonstrate Concealed Entrainment in patients with Coronary Artery Disease undergoing Radiofrequency Ablation of Ventricular Tachycardia. *Circulation* 95: 183-190, 1997.
- 12 Butera J. A. Spinelli, W. Anantharaman V. Marcopulos N.; Parsons, R. W. Mouvarak J. F. Culinan. C.; Baglivi J. F.. Synthesis and selective Class III Antiarrhythmic Activity of Novel N-heteroalkyl Substituted 1-(Aryloxy)-2-Propanolamine and related Propylamine Derivatives. *J. Med. Chem*. 34:3412-3228, 1991.
- 13 Cardenas L. M.. *Clínica de las Arritmias*. 2a. Edición, Edit. La Prensa Médica Mexicana. 1987.
- 14 Carpenter JF. Miller KE. Efficacy of The Class III Antiarrhythmic Agent Azimilide in Rodent Models of Ventricular Arrhythmia. *Proc-Soc-Exp-Biol-Med*. 212: 89-93, 1996.
- 15 Cartas Chiñas Juan. *Estadística Médica*. Edit. Limusa. 1987.
- 16 Cambell TJ. Subclassification of Class I Antiarrhythmic Agents. In: Vaughan Williams EM, DE. *Antiarrhythmic Drugs Handbook of Exp. Pharmacology Berlin: Springer-Verlag*. 135-155, 1989.
- 17 Camm AJ. Ward de Clinical Aspects of Cardiac Arrhythmias. *Kluger Academic Publishers*. 301-337, 1988.

- 18 Curtis MJ.. Models for The Study of Arrhythmias in Miocardial Ischemia and Infarction: The use of the rat. *J. Mol. Cell Cardiol.* 19: 399-419, 1987.
- 19 Chavez Rivera Ignacio. Cardiopatía Isquémica. *Angor pectoris*. Tomo II, Edit. Salvat, 1982.
- 20 *Chem Pharm. Bull.* 41(9): 1573-1582, 1993.
- 21 D. Böcker M. Block M. Borggreff and G. Brethardt. Defibrillators superior to Antiarrhythmic Drugs in the Treatment of Ventricular Tachyarrhythmias. *European Heart Journal.* 18: 26-30, 1997.
- 22 El Gran Libro de la Salud. *Enciclopedia Médica de Selecciones de Reader's Digest México D.F.* 1971.
- 23 Etman M.L. Michael, L Tose R.D., Dreyed W.J., Anderson D.C., Taylor A. A., Smith W.. Inflammation in The Course of early miocardial ischemia. *Faseb Journal.* 5: 2529-2537, 1991.
- 24 Frasure-Smith, Nancy PhD., Lesperance Francois MD, Talajic Mario MD.. Depression and 18 month prognosis after Miocardial Infarction. *Circulation.* 91: 999-1005, 1995.
- 25 García Civera R., Cárdenas A. Cosing. Automatismo y Conducción Cardíaca. 2a. Edición . Edit. MCR, Madrid, 1987.
- 26 Guyton C. Arthur. *Tratado de Fisiología Médica*. 6a. Edición, Edit. Interamericana, 1894.
- 27 Harrison D.C.. Is there rational basis of the modified clasification of antiarrhythmic drugs? In: Morganroth J. Moore en EDS, cardiac arrhythmias. *New therapeutic drugs and devices Boston: Nijhoff*, 36-47, 1985.
- 28 Hearse David J. Humphey S. M. Bullock G. R.: The OxygenParadox and The calcium Paradox: Two Facets of The same Problem?, *J. Mol. Cell. Cardiol.* 10:641-668, 1978.
- 29 Hearse David J. And Bolli Roberto. Reperfusion induced injury: Manifestations Mechanisms and Clinical relevance. *Cardiovascular Research.* 26: 101-108, 1992.
- 30 H. Kesteloot. Nutrition and Cardiovascular Diseases. *Acta Cardiologica.* .L1:(4): 327-330, 1996.
- 31 Huxley H. E.. The doble array of filaments in cross-estrated muscle. *J. Biophys. Biochem. Cythol.* 3: 361, 1957
- 32 Iturralde Torres Pedro. *Arrimias Cardiacas*. Edit. Mc Graw-Hill Interamericana. 1997.
- 33 Jimenez C., Ma. Eugenia. Obesidad como Factor de Riesgo de Enfermedad Cardiovascular. *Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica.* 13(10): 1-3, 1996.
- 34 J. Tortora Gerardo, Nicholas P. Anagnostakos. Principios de Anatomía y Fisiología. 6a. Edición, Edit. Harla, 1993.
- 35 K. M. Johnston, B. A. Macleod and MJA. Walker. Responses to ligation of coronary artery in conscious rats and he actions of antiarrhythmics. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 61: 1340-1353, 1983.
- 36 Kenny B. Lipkowitz, D.B. Boy: Reviews in Computational Chemistry. British Library Cataloguing in Publication Data. *Indianapolis, indiana.* 45-58, 1990.
- 37 Kida M. Fujiwara H., Ischida M.. Protective effect of Verapamil in Ischemic Porcine Hearts Analysis of Ultrastructural and Metabolic Changes Using in vitro P-NMR spectroscopy. *J. Mol. Cell Cardiol.* 22: 759-769, 1990.

- 38 Korolcovas A.. *Essential of Medical Chemistry*. 2a. Edición, A. Wiley Interscience Publication. Sao Paulo, 1988.
- 39 L. Brent Mitchel MP. *Procp. Use of the newer Antiarrhythmic Drugs in Patients with Supraventricular Tachyarrhythmias: let's not throw out the baby with the bath water. Can. J. Cardiol.* 12 (10), 1996.
- 40 L. Gregory Garrison K. Darell Berlin, Benjamin J. Scherlag. Novel 3,7-diheterabicyclo [3.3.1.] nonanes that Possess predominant Class III Antiarrhythmic Activity in 1-4 day post Infarction dog models : X Ray Diffraction Analysis of 3-[4-(1H-imidazol-1-yl) Benzoyl]-7-isopropil-3,7-diazabicyclo [3.3.1.]nonane dihydroperchlorate. *J. Med. Chem.* 39: 2559-2570, 1996.
- 41 L. Lehninger Albert. *Bioquímica*. 2a. Edición, Edit. Omega, 1994
- 42 Low B. *Am. J. Cardiol.* 43:313-328, 1995.
- 43 Lubert Stryer. *Bioquímica*. 3a. Edición, Edit. Reverté Tomo I, II., 1994
- 44 Luchesi, B.R. Hardman H. F.. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 132:372, 1961.
- 45 M. David Sout W. L. Matier, Cynthia Barcelon-Yang. Synthesis and Antiarrhythmic and Parasympholytic Properties of Substituted Phenols 3. Modifications to The Lincage Region 3. *J. Med. Chem.* 28:295-298, 1995.
- 46 M. David Sout, W. L. Matier, Cynthia Barcelon-Yang, Robert D. Raynolds and Barry S. Brownl. Synthesis and parasympholytic Properties of Substituted phenols 2 amides. *J. Med. Chem.* 27: 13457-1350, 1984.
- 47 Malcolm T. Forter, MD, Robert W. Peter, MD, Deborah Froman. Electrophysiologic effects and predictors of succes of combination Therapy with class 1A and 1B Antiarrhythmic Drugs for sustained Ventricular Arrhythmias. *Am. J. Cardiol.*, 78: 47-50, 1996.
- 48 Maninig AS. Bruyninx C., Ramboux J. Chatelain P.. SR-33589 a new Amiodarona like Agent: Effect on Ischemia and Reperfusion- Induced Arrhythmias in Anesthetized Rats. *J. Cardiovasc-Pharmacol.* 26: 453-461. 1995.
- 49 Marcel E. Bolli R. Myocardial Reperfusion injury: Fact or myth? A 1993 appraisal of seemingly endless controversy. *Ann N.Y. Acad. Sci.*, 723: 218-228, 1994.
- 50 M.C.D., Maclean. Experimental Miocardial infarction in The Rat. *American Journal of Phatology*, 90 (1), January, 1978.
- 51 Michael R. Gold MD. PhD., Patrick T. O'Gara, MD, Mortimer J. Buckley. Efficacy and Safety of Procainamida in Preventing Arrhythmias after Coronary Artery Bypass Surgery. *Am. J. Cardiol.* 78: 975-979, 1996.
- 52 Morgaroth Joel. Proarrhythmic effects of Antiarrhythmic Drugs; Evolving Concepts. *Am. Heart J.* 123: 1137-1139, 1992.
- 53 Olmez E., Birincioglu M. Aksol T.. Effects of Captopril on Ischaemia-Reperfusion induced Arrhythmias in a Rat Model. *Pharmacol. Res.* 32: 37-41, 1995.
- 54 Opie L. H.. Drugs and the Heart IV Antiarrhythmic Agents. *Lancet*, 1: 861-868, 1980.
- 55 Pai S. Torres V.: Atrial Fibrillation new Management Strategies. *Curr Probl. Cardiol.* XVIII: 258-260, 1993.

- 56 P.R.W. Herman A., J. G. Bost et al. Cardiovascular Diseases and Alimentary Comparason Study: Preliminary Análisis form Brazil. *J. Cardio. Pharmacology*, 16(Suppl 8): 538-539, 1970.
- 57 Puech P. Iturralde P., Tratamiento de la Arritmias. Chavez Rivera I. *Cardiología*. Edit. Panamericana, 413-464, 1993.
- 58 Ramirez J. C., M. Peña A., Variations on the Dilution Method for reconstituting cyt-crome oxidase into membrane vesicles. *Annals of Biochemistry*. 263: 100-106, 1987.
- 59 Rivera M. Hipertensión Arterial Sistémica e Isquémica del Miocardio. *Ateroma*. 2(9): 105-109, 1992.
- 60 Robert J. Sweeney, Robert M. Gill, Mitchell I. Steinberg, and Philip R. Reid. Effects of Flecainide, Encainide and Clofilium on Ventricular Refractory Period Extension by Transcardiac Shocks. *PACE* 16: 50-60, 1996.
- 61 S. Douglas Lee, MD, David Neuman. Electrophysiologic Mechanisms of Antiarrhythmic efficacy of a Sotalol and Class IA Drug Combination: Elimination of reverse use dependence. *American College of Cardiology*. 29: 100-105, 1997.
- 62 Stephen S. Gotlieb Eichhorn. Hemodynamic Effects of The Class III Antiarrhythmic Drug d-sotalol in Patients with Congestive Heart Failure. *Am. J. Cardiol*. 78: 1411-1415, 1996.
- 63 Samiha A. A. El-mihdy A. A. Alhaider, Afat A. Mahgoub, Abdulwahab M. Bashandy. Supresion of ventricular Arrhythmias Resulting from Acute Coronary Artery ligation in Rat by Imipramina. *J. Pharm. Pharmacol*. 42: 360-362, 1990.
- 64 Seymour A. Chatham J., Radda G., Effects of Repeated low Calcium Perfuson on the Rat Heart a Gradual Induction of Calcium related Damage. *J. Mol. Cell. Cardiac*. 22: 131-141, 1990.
- 65 S.P.P. INEGI. Defunciones Generales y de Menores de un Año por Causas Cardíacas según la Clasificación de Enfermedades 1979-1981, Cuadro 11.1.12 parte tercera. *Anuario Estadístico de los Estados Unidos Mexicanos*, 1984.
- 66 S. Oluwole Fagbeni Liguó Chi and Benedict R. Luchesi antifibrillatory and Profibrillatory Actions of Selected Class I Antiarrhythmic Agents. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. 21: 709-719, 1993.
- 67 Tachyarrhythmias Significance and Management. *Astra/Haessle, Cardiovascular*. 1994.
- 68 Tellez Francisco, Carvajal Karla, García Cecilia, Vásquez César, Edmundo Chavéz. Bases Bioquímicas y Celulares del Daño por Isquemia y Reperfusión en el Miocardio. *ARCH. INST. CARDIOL. MEX.* 66:162-181, 1996.
- 69 Vaughan Williams EM. Clasification of Antiarrhythmic Actions Reassessed after a Decade a new Drug. *J. Clin. Pharmacol*. 24:-129, 1984.
- 70 Vaughan Williams EM. Clasification of Antiarrhythmic Drug. In Sandor R., Flensted Jensen. Symposium on Cardiac Antiarrhythmic. *Sodertalje, Sweden, Astra AB*. 449-468, 1970.
- 71 V. Ziachi, A. Rossi, C. Francalossi, G. P. Gelmini B. Lomanto. Flecainia Acetate in the Treatment of Supraventricular Reentrant tachycardias. *New Trends in Arrhythmias*. VIII (3), 1992.
- 72 Wayne W., Daniel. Bioestadística Base para El Análisis de Las Ciencias de La Salud. 3a. Edición, Edit. Limusa. 1991.

- 73 Welles HJJ, Brugada P. Antiarrhythmic Therapy The Value of The History of The Patients. *Am. Heart J.* 103: 730-736, 1982.
- 74 Wesley W. Brooks, Chester H. Conrad and James P. Morgan. Reperfusion Induced Arrhythmias Following Ischaemia in Intact rat Heart: Role of Intracellular Calcium. *Cardiovascular Research*, 29: 536-542. 1995.
- 75 Winkle H. Clinical Pharmacology of nwe Antiarrhythmic Drugs. In Josephson ME., Wellens HJJ. Tachycardias. Mechanism, Diagnosis and Management. Philadelphia. *Lea y febiger*, 387-398, 1984.
- 76 Zipes DP.. Proarrhythmic Events. *Am. J. Cardiol.* 61: 70-80, 1988.
- 77 Zazueta C., Holguin J., A. Ramirez J.. Calcium Transpor Sensitive to Ruthenium Cytochrome Oxidase into Membrane Vesicles Reconstituted with Mitochondrial Proteins. *J. of Bioenergetic and Biomembranes*, 29: 889-902, 1991.
- 78 Zipes D.P., Jalipe J.. Cardiac Electrophysiology and Arrhythmias. *Grune & Stratton, Inc.* 1990.