



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**EVALUACIÓN DE CAPTOPRIL Y LQM319 EN EL INFARTO MIOCÁRDICO
MEDIANTE BIOMARCADORES DE CREATÍNINAS (CK-MB),
MIOGLOBINA (Myo) Y TROPONINA (cTnI)**

TESIS

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

PRESENTA

Gabriela Cortes Martínez

ASESORAS

Dra. Luisa Martínez Aguilar

M. en C. Jazmín Flores Monroy

Dra. Patricia Ramírez Noguera

CUAUTITLÁN IZCALLI , ESTADO DE MEXICO 2013



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
Química Farmacéutica Bióloga
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, autoriza al alumno:
Gabriela Cortes Martínez

Con número de cuenta: **303106399** a presentar el: **Trabajo de Tesis**

Evaluación de Captopril y LQM319 mediante Biomarcadores Creatin Cinasa (CK-MB), Mioglobina (Myo) y Troponina I (cTnl)

Bajo la asesoría de la: **Dra. Luisa Martínez Aguilar**
Para obtener el título de: **Química Farmacéutica Bióloga**

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA Y FECHA
PRESIDENTE	Dra. Luisa Martínez Aguilar	<i>L.M.A.</i> 29/04/13
VOCAL	Dr. Andrés Romero Rojas	<i>AR</i> 14/05/13
SECRETARIO	M. en C. Lidia Rangel Trujano	<i>Lidia Rangel</i> 14/5/13
1er. SUPLENTE	QFB. Ma. de Lourdes Galván Ruiz	<i>Ma. de Lourdes Galván Ruiz</i> 14/May/13
2do. SUPLENTE	QFB. Azucena Lee Mendoza	<i>Azucena Lee Mendoza</i> 14/05/13

Atentamente notificamos su participación en la revisión y evaluación del trabajo para que en un plazo no mayor a 30 días hábiles emita su VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 30 de abril de 2013.

L.A. ARACELI HERRERA HERNÁNDEZ
JEFA DEL DEPARTAMENTO

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

Agradecimientos

Cuando comencé a escribir mi tesis, nunca creí que la parte más difícil de este trabajo sería escribir estas líneas, y ahora que me encuentro aquí frente a esta hoja no encuentro las palabras para demostrar a cada una de las personas mi inmenso cariño, puesto que cada con un granito de arena me ayudaron y algunas hasta me dieron un jaloncito de orejas para que concluyera este gran sueño... mi tesis.

Y creo que comenzare a derramar algunas lágrimas, por eso seré breve...

Agradezco a Dios por darme el maravilloso regalo de la vida y compartirla con mi hermosa familia, por tenerlos siempre tan cerquita de mí brindándome todo su amor y apoyo en todo momento de mi vida. Por cuidarme siempre y llenarme de bendiciones durante toda mi vida.

*A mis padres que a pesar de todo lo que hemos pasado siempre están los dos juntos para apoyarme cada quien a su manera pero jamás dejarme sola a pesar de mi forma tan especial de ser, gracias por brindarme la oportunidad de concluir mi carrera, por enseñarme desde pequeña lo importante de terminar lo que se empieza con entrega y dedicación, pero sobre todo con amor a lo que se hace, sé que no siempre lo demuestro pero muchas gracias por darme la vida los amo demasiado, gracias por confiar en mí, apoyarme y no dejarme vencer, me siento tan orgullosa de tenerlos a ustedes porque con su ejemplo también me formaron y sobre todo **GRACIAS** por ser mis padres...*

A mi papá Pedro, muchas gracias por esas charlas de motivación porque sin ellas tal vez desde el inicio hubiese desistido y abandonado lo que ahora adoro tanto, por darme todo cuanto necesite y hacer tu mayor esfuerzo para que nada nos haga falta, por demostrarnos que a pesar de las adversidades se puede concluir una carrera... te quiero mucho.

A mi gran señora, mi madre Lily, gracias por exigirme porque por esa razón soy quien soy, por todos esos regaños porque se lo importante que somos para ti, por siempre

acompañarme hasta altas horas, como bien tú dices hasta irme a dormir, gracias por guiarme siempre por el buen camino, aquí tienes el resultado de tu esfuerzo má, porque eres una súper mampa una mujer maravillosa... gracias por todojj... te quiero mucho.

*A mis abuelitas **Guadalupe Salvador[†]** y **Gabriela Martínez[†]** que sé que desde donde están siempre nos mandan sus bendiciones, porque desde ustedes comenzó esto, con su ejemplo de luchar contra el mundo, son mi inspiración las amo y las extraño tantojjj... Les dedicó todo lo que hago día a día.*

*A mis hermanitos, **Alezzita y Gogo**, por todos esos días de sonrisas porque sin ustedes mi vida no sería tan divertida, son los mejores hermanos los quiero a montones, gracias por ser además mis confidentes, por esos abrazos y esas charlas nocturnasjj... ahora siguen ustedes, siempre los apoyaré y sé que lo lograránjj*

*A mis amigos, porque sin ustedes esta vida no tendría sabor son una parte muy importante de mi vida... **Gracias Roberto Sánchez Agundis** por cuidarme siempre, por apoyarme, escucharme durante estos 21 años de conocernos eres uno más de mis hermanos, gracias por tus consejos y regaños... **Gracias Néstor F. Cardoso Gutiérrez**, por acompañarme desde el inicio de la carrera y hasta ahora, te debo mucho, gracias por desvelarte conmigo haciendo todas las tareas y explicándome hasta hacerme entender, gracias por todas esas experiencias divertidas y no tan divertidas, gracias por todojj.... Los mega quierojj*

*Gracias por quien ahora forma parte de mi vida, **gracias Iván**, por todo tu amor y apoyo, por estar en esta última etapa de mi carrera, gracias por soportar mi carácter, gracias por estar conmigo y volar lo más alto amor hasta conquistar el mundo... te amo demasiado mi amor...*

A la Universidad Nacional Autónoma de México por ser nuestra máxima casa de estudios y nuestra segunda casa durante tanto tiempo. Por permitirme formar parte de esta maravillosa Institución y darme la oportunidad de llenarme de orgullo al ser universitaria. Porque durante mi estancia desde el Colegio Ciencias y Humanidades Vallejo hasta ahora la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán me han brindado los recursos necesarios para mi formación como profesionista. Porque dentro de ella conocí a personas extraordinarias a las que agradezco el conocimiento y experiencias, gracias a mis profesores por exigirme el máximo como persona y día a día me guiaron en mi formación y conclusión de mi carrera, por enseñarme a amarla y entender porque somos orgullosamente ZFB's.

A la Dra. Luisa Martínez Aguilar puesto que gracias a su paciencia y dedicación hacia mí, no solo profesionalmente si no personalmente, hoy concluyo uno de mis más grandes sueños. Gracias por formar parte de esta historia de conocimientos adquiridos, por enseñarme lo importante que es esmerarme y ponerle no solo mi esfuerzo, también mi cariño a la investigación y abrirme esa puerta para formarme profesionalmente. Gracias por permitirme ser parte de su equipo de trabajo y siempre apoyarme en todo... sepa usted que la admiro demasiado...

A la M.en C. Jazmin Flores Aguilar por su asesoramiento y apoyo durante la realización de este proyecto realizado en el Laboratorio de Farmacología del Miocardio ubicado en la Unidad de Posgrado de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán; porque además de apoyarme con conocimientos, siempre la veré como una gran profesional y trabajadora dispuesta a ayudar en los pasos que damos dentro de la investigación.

A la Dra. Patricia Ramírez Noquera de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Campo 4, por su apoyo en la realización de mi tesis.

Al honorable jurado, gracias por compartir este momento tan feliz de mi vida profesional. Por brindarme su ayuda profesional y académica para que esta tesis creciera;;

*Se agradece a la **DAGAPA-UNAM** proyecto **PAP177-71212213-3** y a la **CATEDRA CONS-26- FES-CUAUTITLÁN-UNAM.***

ÍNDICE

	Página
INDICE DE TABLAS.....	8
INDICE DE FIGURAS	8
INDICE DE GRAFICAS	9
ABREVIATURAS	10
1. INTRODUCCION	12
2. GENERALIDADES.....	14
2.1 Fisiopatología del infarto miocárdico.....	15
2.1.1 Causas del infarto miocárdico	15
2.1.2 Formación de la lesión miocárdica.....	17
2.2 Diagnóstico bioquímico de infarto miocárdico (IM)	18
2.3 Marcadores bioquímicos cardiacos.....	19
2.3.1 Proteína Enzimática	20
2.3.1.1 Creatincinasa (CK-MB).....	20
2.3.2 Proteinas no enzimáticas.....	22
2.3.2.1 Mioglobina	22
2.3.2.2 Troponina	23
2.4 Farmacología de los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA)	25
2.4.1 MECANISMO DE ACCIÓN	26
2.4.2.2 CompuestoLQM 319 ⁴⁰	31
3. OBJETIVO.....	34
3.1 Objetivo General	34
3.2 Objetivos Particulares.....	34
4. HIPÓTESIS	35
5. MATERIAL Y METODOS.....	35
5.1 Material Biológico	35
5.2 Muestras utilizadas	35
5.3 Reactivos	36
5.4 Materiales.....	38

5.5 Equipos.....	33
5.6 Diseño experimental	34
5.6.1 Pretratamiento con fármacos captopril y compuesto LQM319	35
5.6.2 Inducción de infarto miocárdico por oclusión coronaria descendente anterior izquierda in vivo. Se realizó una cirugía por ligadura permanente.	36
5.6.3 Obtención de muestras	36
5.6.4 Técnicas para la determinación de biomarcadores cardiacos.....	37
5.6.4.1 Determinación cuantitativa	37
5.6.4.1.1 Isoenzima Creatin Cinasa MB	37
5.6.4.2 Método en Analizador Espectrofotómetro UV*	38
5.6.4.3 Método de un Paso Estilo Casette	40
5.6.4.4 Troponina I cardíaca estilo casete para suero.....	40
5.6.4.4.1 Mioglobina estilo casete para suero.	40
5.6.5 Valores de referencia	41
6. RESULTADOS	42
6.1 Resultados del porcentaje de área necrosada en los diferentes grupos.	43
6.2 Resultados de los biomarcadores cardiacos	45
6.2.1 Determinación de la Isoenzima CK-MB post-infarto miocárdico 24 h de oclusión.	45
6.2.1.1 Determinación de la Isoenzima CK-MB post-infarto miocárdico 48 h de oclusión.	46
6.2.1.2 Determinación de la proteína Troponina I pos-infarto 24 h de oclusión.	47
6.2.1.3 Determinación de la proteína Troponina I pos-infarto 48 h de oclusión.	48
6.2.1.4 Determinación de la proteína Mioglobina pos-infarto 24 h de oclusión.	49
6.2.1.5 Determinación de la proteína Mioglobina pos-infarto 48 h de oclusión.	50
7. ANALISIS DE RESULTADOS	51
8. CONCLUSIONES	56
9. REFERENCIAS	57
Anexo I	61

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Propiedades de los marcadores de necrosis cardiaca.....	9
Tabla 2. Valores de referencia en IAM.....	41
Tabla 3. Porcentaje de área de infarto miocárdico después de 24 h de oclusión sin y con tratamiento.....	43
Tabla 3. Porcentaje de área de infarto miocárdico después de 48 h de oclusión sin y con tratamiento.....	44

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Perfil temporal de los biomarcadores Myo, CK-MB y Troponina de necrosis cardiaca después de infarto miocárdico agudo.....	14
Figura 2. Fases de un infarto por Electrocardiograma.....	17
Figura 3. Lesión miocárdica, formación de la placa aterosclerótica.....	18
Figura 4. Cinética de la enzima Creatin Kinasa MB.....	21
Figura 5. Esquema bidimensional del grupo HEMO.....	22
Figura 6. Cinética de la proteína Mioglobina.....	23
Figura 7. Estructura de una microfibrilla.....	23
Figura 8. Cinética de la proteína Troponina.....	25
Figura 9. Mecanismo de acción de fármacos IECA y su sitio de acción.....	27
Figura 10. Estructura química del Captopril.....	28
Figura 11. Estructura química del compuesto LQM319[4-terbutil-bis-(2,6-tiomorfolin-4-metil)-1-fenol].....	31
Figura 12. Molécula de la Changrolina, en tres regiones.....	32
Figura 13. Reacción química para la síntesis de los compuestos Ditiomorfolinicos.....	33
Figura 14. Inducción del Infarto Miocárdico por oclusión coronaria.....	35
Figura 15. Tratamiento de rata Wistar macho por V.I.M.....	36
Figura 16. Sistema S-MONOVETTE®.....	36
Figura 17. Funcionamiento del sistema S-MONOVETTE®.....	36

Figura 18. Baño María analógico THERMO FISHER®.....	37
Figura 19. Programa analizador “SIMPLE READS APPLICATION VARIANS”.....	38
Figura 20. Espectrofotómetro CARY1E UV/VIS.....	38
Figura 21. Programa analizador “SIMPLE READS APPLICATION VARIANS” en proceso de lectura.....	39
Figura 22. Casete para prueba rápida.....	40
Figura 23. Ejemplo de resultados para el método Estilo Casete.....	41

INDICE DE GRAFICAS

Gráfica 1. Resultados de CK-MB a 24 h de tratamiento.....	45
Gráfica 2. Resultados de CK-MB a 48 h de tratamiento.....	46
Gráfica 3. Resultados de Troponina a 24 h de tratamiento.....	47
Gráfica 4. Resultados de Troponina a 48 h de tratamiento.....	48
Gráfica 5. Resultados de Mioglobina a 24 h de tratamiento.....	49
Gráfica 6. Resultados de Mioglobina a 48 h de tratamiento.....	50

ABREVIATURAS

ADP	Adenosíndifosfato
AST	Aspartatoaminotransferasa
ATP	Adenosíntrifosfato
AMP	Adenosínmonofosfato
AP5A	Di-adenosínpentofosfato
cTnl	Troponina cardíaca I
CKM-MB	Creatíncinasa MB
Ca²⁺	Ion calcio
CK-MM	Creatíncinasa MM
CK-BB	Creatíncinasa BB
CP	Createninfosfato
°C	Centígrados
Cm	Centímetros
ECG	Electrocardiograma
ENSANUT	Encuesta Nacional de Salud y Nutrición
ECA1	Enzima Convertidora de Angiotensina 1
ECA2	Enzima Convertidora de Angiotensina 2
ECA	Enzima Convertidora de Angiotensina
FAP	Factor Activador de Plaquetas
G- 6 PDH	Glucosa-6- fosfato deshidrogenasa
g	Gramo
h	Horas
HCl	Ácido Clorhídrico
IgG	Inmunoglobulina G
i.m	Intramuscular
IAM	Infarto Agudo al Miocardio
INEGI	Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática

iECA	Inhibidor de Enzima Convertidora de Angiotensina
LQM	Laboratorio Química Medicinal
L	Litro
Mg	Miligramos
mg/Kg	Miligramo por Kilogramo
mm	Milímetros
mmol	Milimol
mL	Mililitros
M	Molar
Myo	Mioglobina
Nm	Nanómetros
ng/mL	Nanogramos por mililitro
PHNAD	Fosfato dinucleótido de nicotinamida adenina reducido
NAC	N-acetil-L- cisteína
OMS	Organización Mundial de la Salud
PDP	Peptidil – dispeptidasa
pH	Potencial de hidrogeno
rpm	Revoluciones por minuto
SCA	Síndrome Coronario Agudo
TNF- α	Factor de Necrosis alfa
TGF- β	Factor de crecimiento trasformante beta
TC	Troponina cardiaca
UV	Ultravioleta
U/L	Unidades por litro
VIS	Visible
μL	Microlitro

1. INTRODUCCION

Cada año mueren alrededor de 17 millones de personas en el mundo por enfermedades cardiovasculares.¹ La prevalencia estas enfermedades y de acuerdo a el INEGI y ENSANUT (2006), hay en el país 18 millones 526 mil 816 con hipertensión arterial y 15 millones 940 mil 280 con niveles altos de colesterol en sangre.^{2,3}

Las cardiopatías y los accidentes cerebrovasculares son las primeras causas de muerte a nivel mundial.¹ Afectan tanto a países desarrollados como a las regiones de bajos recursos, a medida que cambian los estilos de vida y hábitos de alimentación. La OMS ha reportado en 2012, la hipertensión es un trastorno de alto riesgo que causa alrededor del 51% de las muertes por accidentes cerebrovasculares y el 45% a coronariopatías.⁴ Durante 2010 y 2011, en México los casos de hipertensión arterial incrementaron, teniendo 871 casos detectados en el años 2011 prácticamente durante a vida adulta joven de las personas; de igual manera la primera causa de muerte en mujeres y hombres las enfermedades isquémicas del corazón. Se ha observado que en los varones, principalmente, en la población de 65 años y más tienen mayor los porcentaje de que padezcan infarto agudo del miocardio y enfermedad isquémica crónica del corazón, en comparación con las mujeres.⁵

En función a las estadísticas, un grupo de investigadores de la FES Cuautitlán desarrolla compuestos con posible efecto antihipertensivo, antiarrítmico, en infarto miocárdico e insuficiencia cardiaca. Estudios previos sobre la actividad biológica han mostrado que los compuestos morfolínicos, tiomorfolínicos y piperidínicos tienen efecto hipotensor (modelo de presión arterial invasiva) y efecto antihipertensivo (modelo no invasivo de rata hipertensa espontánea consciente SHR).

Los resultados son prometedores ya que algunos de ellos han mostrado mejor efecto antihipertensivo que el Captopril, Losartán y Omapatrilat. Por lo que es importante realizar los estudios sobre el mecanismo de acción de éstos.⁵

Por otro lado, se ha iniciado el desarrollo de estudios donde se puede evidenciar que un tratamiento farmacológico controla la función del corazón después del infarto miocárdico mediante la determinación

de biomarcadores en plasma sanguíneo que nos indiquen si las diferentes enfermedades cardiovasculares están controladas pudiendo ser: ECA1, ECA2, Proteína C, TNF-alfa, NFk β , TGF- β , Troponina A y Troponina C, CK-MB, entre otros.

En esta tesis sólo se estudiarán los biomarcadores de necrosis miocárdica mejor descritos y más ampliamente disponibles incluyen la troponina cardíaca I (cTnI), la fracción MB de la creatin-quinasa (CK-MB) y la mioglobina. Estos marcadores de necrosis cardíaca muestran importantes diferencias en propiedades clave como la eficacia diagnóstica.

Tabla 1. Propiedades de los marcadores de necrosis cardíaca²²

MARCADOR	ESPECIFICIDAD CARDIACA	PERFIL TEMPORAL		
		TIEMPO PARA PRIMERA DETECCIÓN	TIEMPO MEDIO PARA ELEVACION MAXIMA	DURACIÓN DE ELEVACIÓN
MIOGLOBINA	+	1-3 h	6-7 h	12-24 h
CK-MB	+++	3-4 h	24 h	24-36 h
cTnI	++++	3-6 h	24 h	5-10 días

Se han producido mejoras importantes en la especificidad y sensibilidad analítica de nuevos marcadores cardíacos (tales como troponina cardíaca) y aumentos en la sensibilidad analítica para marcadores más antiguos tales como CK-MB. Un aumento de la sensibilidad analítica en estas pruebas, hace que aumentos pequeños en marcadores sensibles, tales como troponina cardíaca, proporcionen la información clínica adicional que no es evidente con los marcadores convencionales enzimáticos. Los nuevos marcadores se comparan a los marcadores estándares aceptados, y puede ocurrir que los resultados estén discordes el uno del otro.^{22, 23, 24}

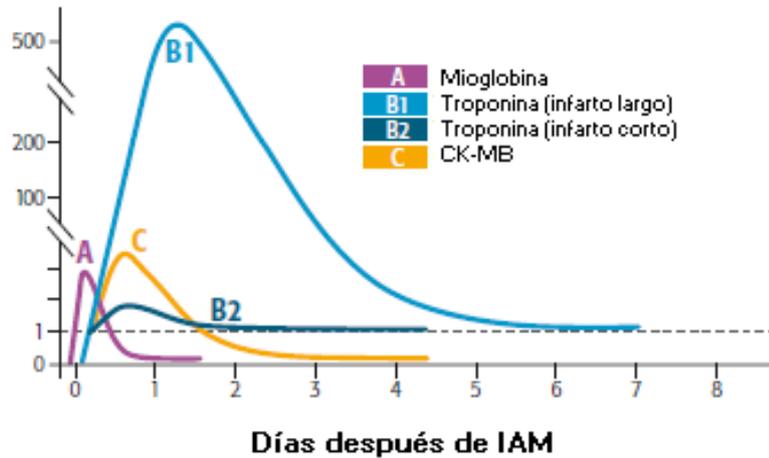


Fig 1. Perfil temporal de los biomarcadores Mioglobina, CK-MB y Troponina de necrosis cardiaca después de infarto agudo al miocárdico ²¹

2. GENERALIDADES

El síndrome coronario agudo (SCA), es un conjunto de manifestaciones de cardiopatía isquémica o insuficiencia coronaria, con empeoramiento clínico del paciente en horas o días. En esta situación el corazón recibe un aporte sanguíneo inadecuado para mantener sus funciones esenciales, con la consecuente carencia de oxígeno; puesto que en el tejido miocárdico la función es estrictamente dependiente de la irrigación sanguínea por su carácter aerobio, el corazón posee una escasa reserva energética en caso de deficiente aporte sanguíneo.⁶⁻⁹

Este SCA comprende de tres grupos de afecciones: angina de pecho inestable aguda, el infarto miocárdico agudo y la muerte cardíaca.⁶⁻⁹

La angina es la situación en la que se produce un dolor en el pecho causado por flujo sanguíneo insuficiente del músculo cardíaco. El dolor comienza de forma lenta y empeora durante unos minutos antes de desaparecer o desencadenar un síndrome de angina inestable donde se origina una aceleración del dolor torácico producido por una formación de un trombo oclusivo sobre la placa aterosclerótica fisurada; derivando un infarto agudo de miocardio.⁶⁻⁹

2.1 Fisiopatología del infarto miocárdico

Se define infarto (del latín: “infartus”, relleno), al proceso patológico en el que una porción del parénquima es privada súbitamente de circulación sanguínea por obstrucción de vasos arteriales y al conjunto de fenómenos (desde isquemia hasta necrosis) consecutivos a esta obstrucción. Por tanto, se podría decir que un episodio de angina inestable es un microinfarto agudo de miocardio, que ocasiona lesión celular menor del propio miocardio. Un microinfarto (daño miocárdico menor) puede derivar a un infarto agudo de miocardio (lesión miocárdica mayor).⁶⁻⁹

2.1.1 Causas del infarto miocárdico

El infarto miocárdico es un evento inesperado que produce la muerte de un sector del músculo cardíaco por deficiente flujo de oxígeno en la zona, debido a esto se considera un síndrome coronario agudo.⁴⁹

Los factores de riesgo en la aparición de un infarto de miocardio se fundamentan en los factores de riesgo de la arteriosclerosis, e incluyen:

- Hipertensión arterial.
- Edad (varones por encima de 40 años, mujeres post menopaúsicas)
- Sexo masculino.
- Tabaquismo.
- Hipercolesterolemia, más específicamente hiperlipoproteinemia, en particular niveles elevados de la lipoproteína de baja densidad (LDL) y bajos de la lipoproteína de alta densidad (HDL).
- Homocisteinemia, una elevación sanguínea de homocisteína, un aminoácido tóxico que se eleva con bajos niveles o insuficientes en la ingesta de vitamina B2, B6, B12 y ácido fólico.
- Diabetes mellitus, con o sin resistencia a la insulina.
- Obesidad definido como un índice de masa corporal mayor de 30 kg/m², la circunferencia abdominal o por el índice cintura/cadera.
- Estrés.

Muchos de los factores de riesgo cardíacos son modificables, de modo que muchos ataques del corazón pueden ser prevenidos al mantener un estilo de vida más saludable. La actividad física, por ejemplo, se asocia con riesgos más bajos. Los factores de riesgo no modificables incluyen la edad, el sexo, los antecedentes familiares y otros factores de predisposición genéticos.⁴⁹

El infarto agudo de miocardio representa la manifestación más significativa de la cardiopatía isquémica, que se presenta cuando se produce una necrosis del músculo cardíaco como consecuencia de una isquemia severa. La necrosis miocárdica se manifiesta por proteínas liberadas en la circulación como: troponinas cardíacas (TC) T, I y C, mioglobina, creatina-fosfoquinasa (CK), su componente ligado al miocardio (CK-MB).⁴⁹

La isquemia se presenta por una oclusión coronaria aguda de origen trombótico que se produce a través de la ruptura de una placa de ateroma vulnerable, fenómeno que depende de la relación sinérgica por diferentes factores relacionados con la misma placa y con la coagulación de la pared.⁴⁹

Sin embargo, la OMS (1979) ha definido el infarto en relación al cumplimiento de dos de los tres criterios que se exponen a continuación¹⁰⁻¹¹:

- ✓ **Cuadro clínico característico.** Criterio clínico de dolor torácico, característico de isquemia miocárdica. Dolor de tipo opresivo que, generalmente, aparece con la realización de esfuerzo físico o con el frío. Puede irradiarse hacia el brazo izquierdo, sin olvidar otras localizaciones como pueden ser el cuello o las mandíbulas. Por regla general, se acompaña de sintomatología con malestar general, sudoración profusa, sensación nauseosa e incluso vómitos y sensación de disnea.
- ✓ **Alteraciones en el registro electrocardiográfico.** Durante el estadio inicial, la obstrucción completa de la arteria productora del infarto provoca una elevación del segmento ST. La mayoría de los pacientes que presentan esta elevación, manifiestan luego ondas Q de necrosis pronunciadas en el electrocardiograma (ECG) y terminan por ser diagnosticados por *infarto al miocardio con persistencia de la onda Q*. (fig2).

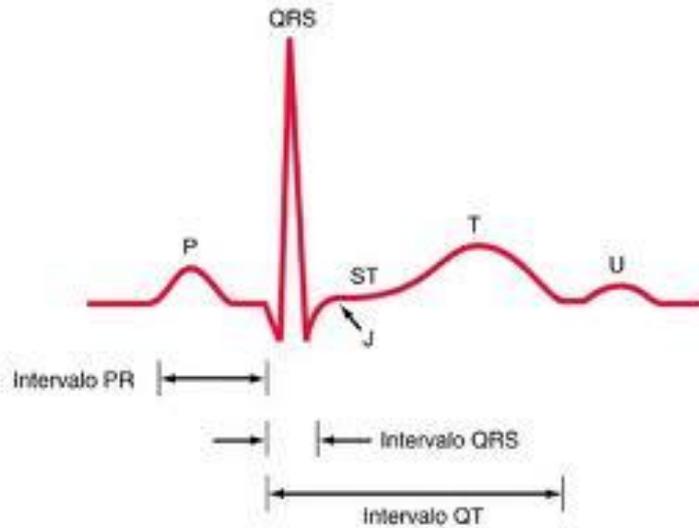


Fig. 2 Componentes de un ECG

(FUENTE: <http://elmercaderdelasalud.blogspot.mx/2011/03/electrofisiologia-y-sistema-de.html>)

- ✓ **Criterios de pruebas bioquímicas.** Un porcentaje de pacientes presentan signos y síntomas atípicos y trazados electrocardiográficos muy poco sugerentes de isquemia miocárdica, sobre todo, si se tiene en cuenta el tiempo de evolución de los síntomas hasta su valoración médica. El uso de pruebas bioquímicas, como marcadores de necrosis miocárdica, tienen una utilidad diagnóstica muy importante. La determinación de estos marcadores y su evolución en el tiempo, junto con los síntomas clínicos del paciente, presentan la mayor eficacia diagnóstica en el SCA.¹²⁻¹⁵

2.1.2 Formación de la lesión miocárdica.

El proceso inicia cuando una placa blanda sufre de erosión o fisuración con la consiguiente exposición del material subyacente constituido por lípidos, células inflamatorias del tipo linfocitos, monocitos, macrófagos, que son activadas a través de mediadores del tipo tromboxano A₂, ADP, FAP, trombina, factor tisular, radicales libres; lo que conlleva a la activación del proceso de coagulación con adhesión y agregación plaquetaria y generación de un trombo oclusivo con fibrina y abundantes glóbulos rojos que provocan isquemia distal del vaso comprometido si no hay circulación colateral. Lo que se denomina oclusión de la arteria coronaria descendente anterior izquierda.²⁰

En el proceso de fisuración estarían involucradas algunas citocinas que inhibirían el proceso de formación de la capa fibrosa que cubre la placa aterosclerótica haciéndola más susceptible de ruptura por la acción de enzimas generadas por los macrófagos tales como metaloproteinasa del tipo colagenasa, gelatinasa, elastasa, entre otros.²⁰(fig 3)

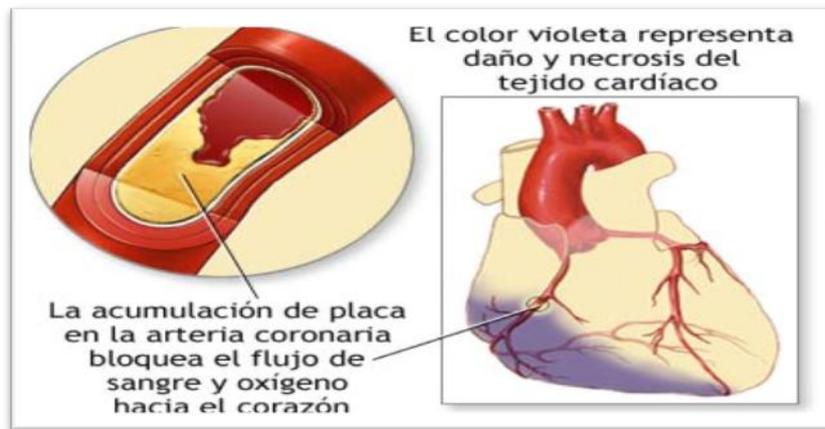


Fig.3 Se observa la Lesión Miocárdica, y la formación de la placa ateromatosa
(FUENTE. Blog para el Médico Octubre 2012)

2.2 Diagnóstico bioquímico de infarto miocárdico (IM)

Una vez que se ha producido la lesión de la membrana, la velocidad de aparición de moléculas intracelulares en circulación depende sobre todo del flujo sanguíneo; por lo tanto el área del miocardio lesionado con una perfusión sanguínea deficiente, libera estas moléculas mucho más lentamente que las áreas en las que la recirculación es más adecuada.¹⁶

La zona subendocárdica del ventrículo izquierdo posee una menor irrigación sanguínea y por lo tanto, las células alcanzan la muerte más rápidamente en esa región en caso de infarto de miocardio, donde pueden detectarse en sangre un aumento en el número de leucocitos y en la velocidad de sedimentación globular, pero es la elevación de las enzimas cardíacas la mejor prueba para el diagnóstico de la enfermedad.¹⁷

Desde el punto de vista diagnóstico en el IAM, existen moléculas intracelulares liberadas algunas de las cuales son de mayor interés en esta patología como las proteínas tanto enzimáticas como no enzimáticas, que suelen ser fácilmente cuantificables en el laboratorio.¹⁸

El uso de biomarcadores cardíacos en el diagnóstico y seguimiento del IM puede ayudar a facilitar un buen juicio clínico. Los test clínicos de laboratorio se focalizan en dos puntos fundamentales¹⁹:

- 1) Para estudiar (y revertir potencialmente) las causas.
- 2) Estimar la gravedad y riesgo de progresión de la enfermedad.

La determinación de isoenzimas localizadas principalmente en células cardíacas mejora la especificidad de las pruebas para el diagnóstico de infarto miocárdico. Los principales son la creatinina Cinasa total (CK-MB), Lactato deshidrogenasa (LDH1 Y LDH2).²⁰

Actualmente se proponen otras proteínas como marcadores tempranos de daño miocárdico, como son la mioglobina, troponina, isoenzimas BB de la glucógeno fosforilasa y otras. Estos marcadores de diagnóstico temprano permiten hacer la selección de la terapia trombolítica adecuada.¹⁷

Otro factor que afecta la liberación del contenido intracelular es el tamaño molecular de sus componentes; así, la enzima CK con un peso molecular de 80.000 daltons, es liberada antes que la enzima AST que posee un peso molecular de 93.000 daltons y ésta, a su vez, es liberada antes que la enzima LDH con un peso molecular de 140.000 daltons.¹⁷

2.3 Marcadores bioquímicos cardíacos

El marcador bioquímico ideal es el que tiene alta sensibilidad y especificidad clínica, aparece de forma precoz después del IM para facilitar el diagnóstico, permanece elevado durante varios días después del suceso y vuelve a concentraciones normales en poco tiempo.³⁷ Se recomienda utilizar dos marcadores bioquímicos para el diagnóstico del IAM: un marcador precoz (que aumenta en sangre dentro de 6 horas después del inicio de los síntomas) y un marcador definitivo (que se eleva en sangre después de

6-9 horas, con alta sensibilidad y especificidad para lesión miocárdica y que permanece elevado varios días después del inicio).^{38,48}

A continuación se describen las principales moléculas estudiadas a lo largo de los últimos años, y que en la actualidad son más utilizadas, que se liberan a circulación sanguínea tras un infarto miocárdico.

2.3.1 Proteína Enzimática

De las enzimas liberadas después de una lesión isquémica irreversible, la mayoría son enzimas solubles o citoplasmáticas y en menor cantidad son mitocondriales, entre ellas:

2.3.1.1 Creatincinasa (CK-MB)

La molécula de creatincinasa (CK) es un dímero compuesto por dos subunidades monoméricas, no idénticas: M y B. Cada una tiene un peso molecular de 40 000 daltons.²⁶

Estas subunidades M y B, son el producto de dos genes estructurales distintos, y puesto que la forma activa de la enzima es un dímero, solamente pueden existir tres pares distintos de subunidades: BB ó CK1 cerebro; MB ó CK2; MM ó CK3 músculo.²⁶

Las tres isoenzimas se encuentran en el citosol celular o asociadas con estructuras miofibrilares. La creatincinasa CK-MB está presente en músculo cardíaco de 25 a 46% de la actividad de la CK total y en menor grado en músculo esquelético.²⁵

Los subtipos de las isoenzimas se forman en la circulación por acción de la enzima carboxipeptidasa que rompe los residuos de lisina terminales y produce isoformas con diferentes migraciones electroforéticas.²⁵

Cuando existe una contracción, el ATP se consume y la creatincinasa cataliza la fosforilación reversible de la creatina por el adenosín-trifosfato (ATP). El principal componente fosforilado del músculo esquelético y cardíaco es el fosfato de creatina, está, aproximadamente unas 8 veces en exceso sobre el ATP. Cuando el músculo se contrae, el ATP se consume y la enzima cataliza la refosforilación del ADP para formar ATP usando fosfato de creatina como reservorio de la fosforilación. Esto ocurre en

situaciones con un incremento de trabajo cardíaco, como en la hipoxia, hipertrofia cardíaca o insuficiencia cardíaca.²⁵ En el tejido fetal predomina CK-BB y con el transcurso del tiempo, esta isoenzima es reemplazada por MB y luego por MM hasta que, finalmente, la isoenzima significativa es MM. CK-MM, predomina en el músculo esquelético y cardíaco la CK-MB está presente en el músculo cardíaco (de 25 a 46% de la actividad de CK total) y también en menor grado en el músculo esquelético (< 5%) y otros tejidos.²⁷ La actividad de CK se encuentra elevada en necrosis o atrofia aguda del músculo estriado, enfermedades del corazón, hipertermia maligna, últimas semanas de embarazo, hipotiroidismo y, ligeramente en inyecciones intramusculares y espasmos musculares. Aunque es específica del corazón la CK es muy útil aunque en el infarto miocárdico la elevación comienza después de la crisis (4-6 horas).²⁸

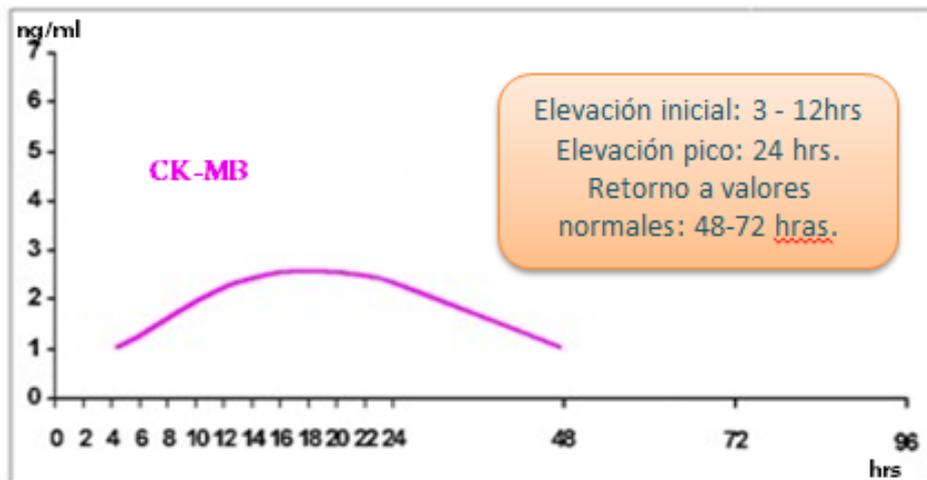


Fig4. Cinética de la enzima Creatin Quinasa MB.

(FUENTE: Cinética de los marcadores bioquímicos 2007

cardiacos <http://www.portalesmedicos.com/publicaciones/articulos/752/1/Cinetica-de-los-marcadores-bioquimicos-cardiacos.html>)

2.3.2 Proteínas no enzimáticas

Tras la desintegración de la membrana celular, se liberan otros componentes citoplasmáticos como pueden ser proteínas no enzimáticas. De ellas la mioglobina, las troponinas, la proteína C reactiva y el NT-proBNP son las más estudiadas actualmente en el infarto miocárdico.

2.3.2.1 Mioglobina

Es una proteína globular, relativamente pequeña ya que posee un peso molecular de 17000 daltons, integrada por una sola cadena polipeptídica de 153 aminoácidos y un grupo prostético hemo, idéntico al de la hemoglobina, que contiene hierro.

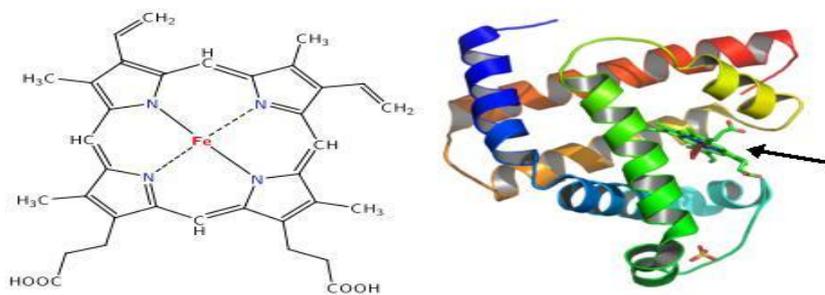


Fig.5 Izquierda. Esquema bidimensional del grupo HEMO. Derecha. Esquema tridimensional de la mioglobina (la flecha señala al grupo hemo) (FUENTE. <http://xquimicx.blogspot.mx/>)

Es una proteína fijadora de oxígeno del músculo estriado, tiene un grupo hemo por molécula y mayor afinidad por el oxígeno que la hemoglobina, sirviendo como reservorio de oxígeno del miocito. Normalmente, alrededor del 70 % del oxígeno que llega al corazón es extraído para su utilización. La mioglobina es la molécula encargada de almacenar este oxígeno extraído.²⁵

Se encuentra en células del músculo esquelético y cardíaco. La mioglobina del músculo esquelético y cardíaco son antigenicamente idénticas y no pueden ser distinguidas por métodos inmunológicos. Se libera como resultado de daño celular y puede aparecer, posteriormente en orina debido a su masa molecular relativamente pequeña. Debido a su liberación en las primeras horas tras un IM y a su alta concentración en músculo cardíaco, es un marcador muy utilizado desde hace años y hasta la actualidad en el IM. No obstante, existe controversia al no ser cardiospecífico.²⁹

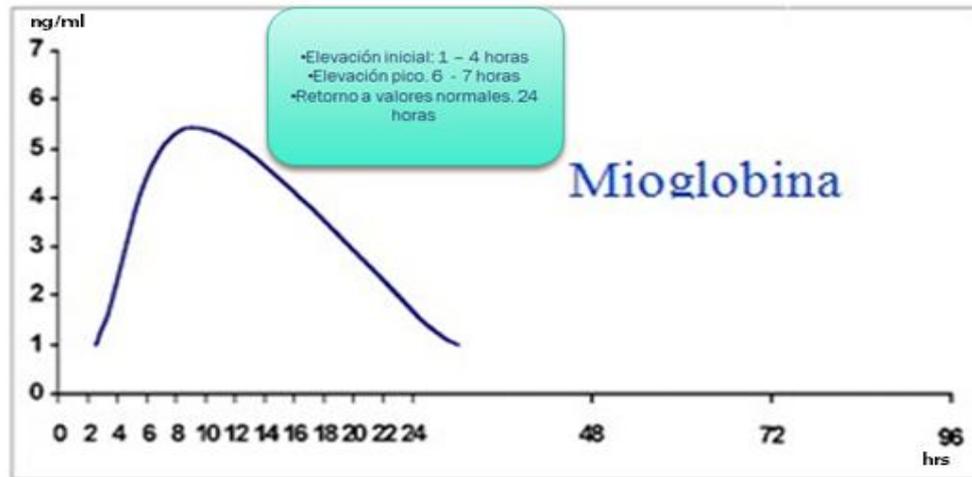


Fig 6. Cinética de la proteína Mioglobina

(FUENTE: Cinética de los marcadores bioquímicos 2007
 cardiacoshttp://www.portalesmedicos.com/publicaciones/articulos/752/1/Cinetica-de-los-marcadores-bioquimicos-cardiacos.html)

2.3.2.2 Troponina

Complejo proteínico regulador de la función contráctil del músculo estriado. Consta de 3 polipéptidos distintos: Troponina C que fija el calcio, Troponina T que liga el complejo troponina a la tropomiosina, y Troponina I que es la subunidad inhibidora del complejo troponina-tropomiosina. Este complejo sirve para regular la interacción calcio-dependiente de actina y miosina por eso juega un papel integral en la contracción muscular. Cada una de las tres subunidades que conforman la troponina, existe en 3 isoformas diferentes que son específicas del tipo de fibra muscular del que proceden.³⁰

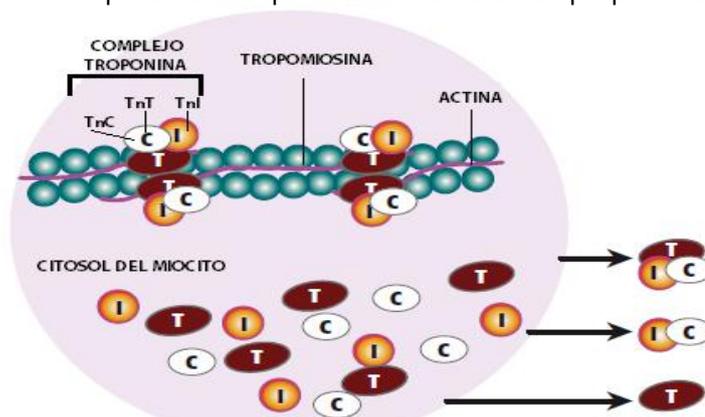


Fig. 7 Estructura de una microfibrilla, el citosol del miocito cardiaco contiene troponinas no unidas que son liberadas a la circulación desde la lesión (Cummings et al, AMER. Heart Journal. 1987).

La troponina C es el componente sensor del Ca^{2+} y tiene dominios de alta y baja afinidad por este catión. En el músculo en reposo, los sitios de alta afinidad son ocupados por el Ca^{2+} mientras que los de baja afinidad están vacíos. Cuando el calcio es liberado del retículo sarcoplásmico, tras el estímulo nervioso provocado en la contracción, ocupa los sitios de baja afinidad produciéndose un cambio de conformación que es transmitido a los otros componentes del complejo troponina y luego a la tropomiosina.³¹

La troponina T controla la posición de la tropomiosina en el filamento delgado entre la actina y la cabeza S1 de la miosina. La tropomiosina interacciona con las cabezas S1 de la miosina cuando el músculo esquelético es activado por impulsos nerviosos.³²

La Troponina I, existe en tres formas moleculares distintas (isoformas) encontrados en fibras de músculo rápidas, fibras de músculo lentas y corazón (cTnI), ésta última expresada tanto en aurículas como en ventrículos y siendo de mayor interés en el IM. La cTnI tiene 30 residuos extra en el extremo amino terminal y se libera precozmente al torrente sanguíneo después de un IM; parece persistir en plasma durante, al menos, 5 a 7 días.³³⁻³⁶

Un aumento de la sensibilidad analítica en estas pruebas, hace que aumentos pequeños en marcadores sensibles, tales como troponina cardíaca, proporcionen la información clínica adicional que no es evidente con los marcadores convencionales enzimáticos. Los nuevos marcadores se comparan con los marcadores estándares aceptados, y puede ocurrir que los resultados estén discordes el uno del otro.²⁰

Se ha establecido una recomendación para las plataformas del análisis y marcadores del infarto agudo de miocardio. El uso de CK-MB se ha sustituido por cTnT y cTnI por su disponibilidad y porque el costo para tales análisis llega a ser competitivo con los ensayos de CK-MB. Si un hospital está utilizando ya cTnT o cTnI, se recomienda que las medidas de las isoenzimas de lactato deshidrogenasa y β -hidroxibutirato deshidrogenasa deben eliminarse inmediatamente, no hay ninguna recomendación en cuanto a la eliminación de las medidas para CK total. Este marcador es barato y fácilmente disponible en laboratorios clínicos, y puede ser muy útil para la detección de lesión o de enfermedad del músculo

esquelético. La troponina cardíaca (T o I) es el nuevo estándar para la diagnosis del infarto de miocardio y detección de necrosis celular, substituyendo a la CK-MB.²⁰

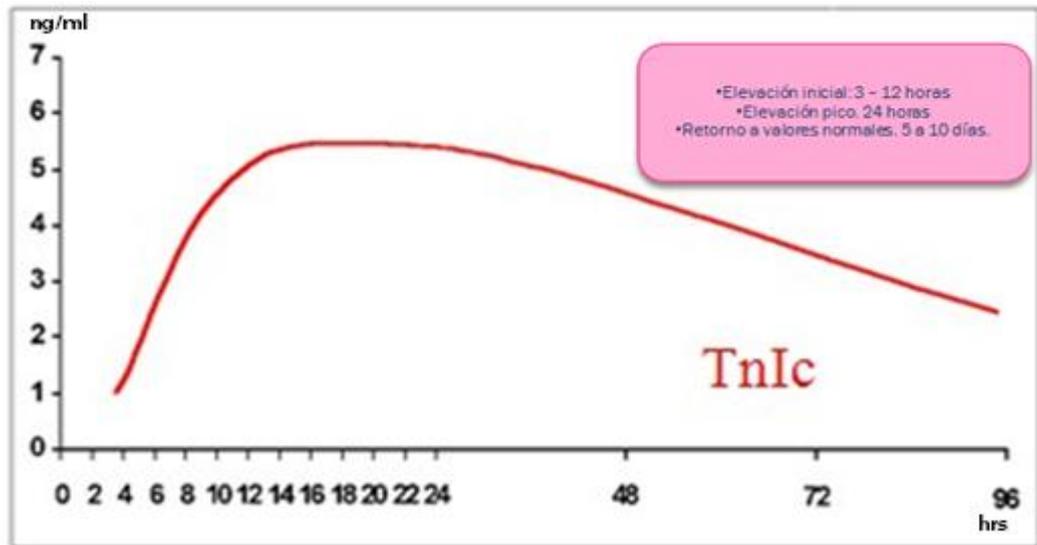


Figura 8. Cinética de la proteína Troponina I.

(FUENTE: Cinética de los marcadores bioquímicos 2007
cardiacos <http://www.portalesmedicos.com/publicaciones/articulos/752/1/Cinetica-de-los-marcadores-bioquimicos-cardiacos.html>)

2.4 Farmacología de los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA)

Después del empleo exitoso del Captopril como primer inhibidor de la ECA, diversos compuestos fueron sintetizados y empleados en el tratamiento y prevención del daño miocárdico post-infarto. Los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina fueron desarrollados para producir el bloqueo específico del sistema renina angiotensina aldosterona; inhibiendo la ECA, esta enzima posee dos funciones: sintetizar la angiotensina I en angiotensina II y catalizando la eliminación del mediador de bradiquinina en productos inactivos.

La inhibición de la enzima convertidora de angiotensina hace que la concentración de angiotensina II en los receptores de angiotensina (AT1 y AT2) disminuya. Así, empieza reduciendo el tono vascular y la presión sanguínea disminuye. A continuación, la reducción del nivel de angiotensina II lleva una reducción de la secreción de aldosterona de la glándula suprarrenal y con ellos determina el contenido de agua.

Según el grupo químico que interactúa con el zinc de la ECA, estos agentes se clasifican como:

- Compuestos fosfóricos
- Compuestos carboxílicos
- Compuestos sulfidrílicos

2.4.1 MECANISMO DE ACCIÓN

Los iECA inhiben la enzima convertidora de angiotensina que hidroliza la angiotensina I (relativamente inactiva) en angiotensina II (activa), bloqueando la producción de esta última, como resultado de la unión directa de su grupo funcional: sulfidrilo, carboxilo o fosforilo en el sitio de ión zinc de la enzima.^{47,49} De este modo los iECA atenúan las respuestas a la angiotensina II o las suprimen. Los iECA también inhiben la degradación de otras sustancias incluyendo bradicininas (péptidos vasodilatadores y antiproliferativos), sustancia P y encefalinas. La síntesis del óxido nítrico y prostaglandinas aumentan tras la elevación mantenida de estos péptidos.^{47,49}(fig 9)

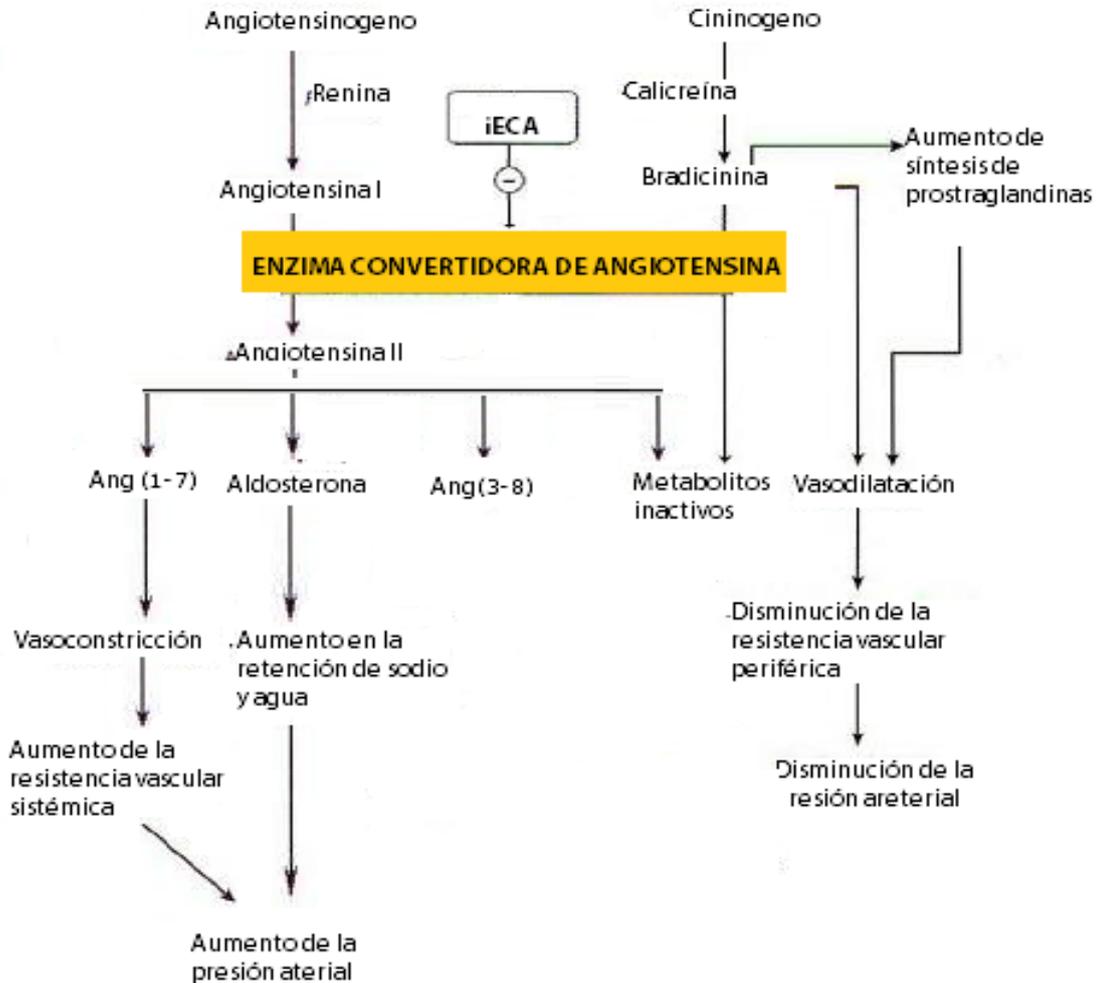


Fig. 9 Mecanismo de acción de fármacos IECA y su sitio de acción
 (FUENTE. Farmacología en el proceso de atención a la Enfermería cap.
 12 <https://biometak1.wikispaces.com/file/view/ECA.JPG/339870756/498x418/ECA.JPG>)

2.4.1.1 Captopril

Los IECA son una familia numerosa de drogas que interfieren el eje R.A.A. y que han demostrado ser eficaces para tratar la hipertensión arterial y la falla cardíaca congestiva, principalmente.

Este grupo de fármacos comenzó a utilizarse a principios de 1980, siendo el Captopril el primer IECA lanzado a la práctica clínica.

Comparten la característica de ser químicamente semejantes a proteínas (aminoácidos modificados, dipéptidos u oligopéptidos), la de inhibir a la enzima convertidora de angiotensina II, y la de haber sido introducidas para el tratamiento de la H.T.A.; en la actualidad han trascendido por su uso en la disfunción ventricular izquierda.

I. PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS.

- $C_9H_{15}NO_3S$

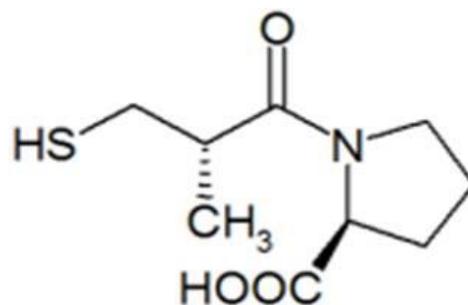


Fig. 10 Estructura química de Captopril;
1-(2S)-3-Mercapto-2-metilpropionil-prolina
(FUENTE. <http://profesionalesdelasalud.blogspot.mx/2007/07/666.html>)

- Punto de fusión. Entre 105 – 108 °C
- Se observa como un polvo cristalino ligeramente blanco o grisáceo, de ligero aroma sulfuroso.
- Solubilidad

El captopril es un compuesto sulfhidrílico, fácilmente soluble en agua (160 mg/mL), metanol, etanol, isopropanol, cloroformo y en cloruro de metileno. Es parcialmente soluble en acetato de etilo.

II. PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS

Los fármacos del grupo iECA, al cual pertenece el captopril reducen la presión arterial mediante las siguientes acciones:

- Disminuyen la resistencia vascular periférica como consecuencia de dilatación arteriolar.
- Aumentan la excreción urinaria de sodio y agua.
- Reducen la secreción de aldosterona.

En pacientes con Insuficiencia cardíaca:

- Reducen la presión auricular derecha.
- Reducen el volumen y la presión de llenado del ventrículo izquierdo.
- Incrementa el volumen por minuto, el índice cardíaco, el trabajo y el volumen sistólico.

Los diferentes estudios controlados realizados para determinar la utilidad de los iECA en pacientes con diversos grados de disfunción diastólica del VI indican que dichos fármacos son capaces de evitar o retrasar la progresión de insuficiencia cardíaca, aminorar la incidencia de muerte repentina e infarto de miocardio, disminuir la hospitalización y mejorar la calidad de vida. Cuando la disfunción ventricular es más grave, la inhibición de la ECA resulta más beneficiosa. Ellos han demostrado mejorar los síntomas, la capacidad funcional, la función ventricular y limitar la activación neurohumoral que acompañan a esta entidad. A largo plazo, el efecto antitrófico de estos fármacos impide la remodelación y con ello reduce el riesgo de mortalidad por insuficiencia cardíaca, arritmias e isquemia miocárdica.

III. FARMACOCINÉTICA DEL CAPTOPRIL

Absorción: Se absorbe rápidamente por vía oral y sus niveles se alcanzan aproximadamente una hora después de administrarse y dura varias horas. La inhibición de la ECA la logra en 15 minutos en el estado postabsortivo y llega a un pico después de 60 a 90 minutos. Su biodisponibilidad es del 60 al 75%, su absorción puede ser disminuida o retardada por los alimentos en la parte alta del intestino por lo que se deberá administrar antes de las comidas. La duración del efecto se relaciona con la dosis, pero en general es de 2 a 8 h.

Distribución: Se distribuye en casi todos los tejidos corporales con excepción del sistema nervioso central. Aproximadamente del 25 al 30% de captopril se une a la albúmina plasmática y el volumen de distribución es aproximadamente 0.7 l/kg. La mitad de la dosis absorbida de captopril es metabolizada a un dímero disulfuro o a un disulfuro de cisteína con lo cual el fármaco madre es excretado sobre todo en la orina.

Eliminación: La excreción está prolongada en los pacientes con una enfermedad renal, por lo tanto, la vida media de eliminación es menos de 2 horas en los pacientes con función renal disminuida y de hasta 6.5 días en los sujetos anúricos.

IV. FARMACODINAMIA

El efecto esencial de este agente sobre el sistema renina-angiotensina, es bloquear la conversión de la relativamente inactiva angiotensina I en la angiotensina II activa (o la conversión de la angiotensina I en angiotensina III). De esta forma atenúa o anula las respuestas de la angiotensina II.

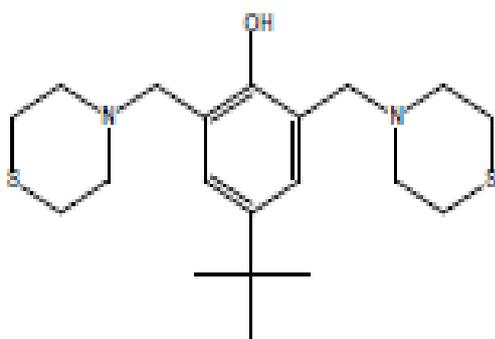
Es por ello considerado dentro del grupo de los inhibidores de la PDP y por ello ejerce un efecto hipotensivo más profundo en aquellos estados hipertensivos donde el sistema renina-angiotensina es más activo (en algunos tipos de hipertensión maligna y renal), sin embargo, tiene una actividad hipotensiva en un espectro de situaciones mucho más amplio de lo que podría esperarse, por ejemplo, en muchos pacientes con la llamada hipertensión esencial de renina normal intensifica el interés de los posibles mecanismos de acción de los inhibidores de la PDP en su utilidad en el tratamiento de un amplio espectro de los estados hipotensivos, reduce la respuesta selectiva de la angiotensina I sin influir en la angiotensina II ni en la respuesta a ninguno de muchos otros agentes farmacológicos con excepción de la bradicinina a la que por supuesto potencia.

V. INDICACIONES Y POSOLOGÍA EN INFARTO DE MIOCARDIO

El captopril está indicado en el postinfarto de miocardio tras 72 horas de estabilidad hemodinámica en pacientes que hayan presentado insuficiencia cardíaca en el curso de la enfermedad o que tenga evidencia de fracción de eyección disminuida. El tratamiento debe iniciarse precozmente, a partir del 3er

día postinfarto de miocardio. Tras una dosis inicial de 6,25 mg de captopril, la dosis se incrementará a 12,5 mg 3 veces al día, y de forma gradual en función de la tolerancia a 25 mg 3 veces al día, hasta una dosis de 150 mg al día de captopril. Si se presentase hipotensión sintomática, se requerirá una reducción de la dosis. Los intentos sucesivos por alcanzarla dosis óptima de 150 mg deberán basarse en la tolerancia del paciente al captopril. El captopril puede ser administrado a pacientes en tratamiento con otras terapias postinfarto de miocardio, como trombolíticos, salicilatos o β -bloqueantes.

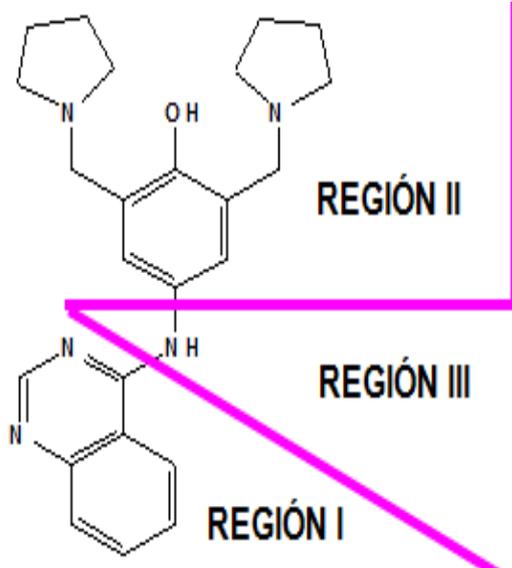
2.4.2.2 Compuesto LQM 319⁴⁰



El 4-terbutil-bis-(2,6-tiomorfolin-4-metil)-1-fenol denominado LQM 319 es un compuesto que se encuentra en fase de estudios preclínicos al cual se le ha demostrado que posee actividad antiarrítmica, antihipertensiva y vasodilatadora en un modelo en rata.

Fig.11 Estructura de LMQ319 (FUENTE: Mena García Y., Sánchez Dorantes A. Tesis de Licenciatura QFB 2010.)

Esto se encuentra a partir de que en el año 1979 un grupo de investigadores en la República de China mientras examinaban las propiedades contra la malaria de derivados de la planta china *Dichroa Febrifugina*, notó que durante los ensayos clínicos la changrolina era efectiva como agente antiarrítmico. Stout y sus colaboradores llevaron a cabo el estudio de la changrolina como un antiarrítmico efectivo. Stout y col. Indujeron una serie de compuestos antiarrítmicos realizando algunas variaciones en la estructura de la changrolina encontrando primero que ésta puede ser dividida en tres regiones.



REGIÓN I: consiste en una molécula de quinazolina que puede reemplazarse por heterocíclicos sin perder la actividad antiarrítmica.

REGIÓN II: consiste en el 2,6 bis fenol tetrasustituido que presenta la mayor actividad y si ésta región no está completa la actividad es nula.

REGIÓN III: es un enlace entre la región 1 y 2 en la cual pueden incluirse diferentes grupos para tratar de aumentar la actividad y disminuir la toxicidad.

Fig 12. Molécula de la Changrolina, en tres regiones.
(FUENTE. Tesis de Licenciatura QFB 2010. Mena García Y; Sánchez Dorantes A.)

Se inicio el estudio de la relación estructura actividad biológica la cual consistía en cambiar los sustituyentes de la región 2 y 3 encontrando que los anillos pirrolidinicos podían sustituirse por otros anillos heterocíclicos como la morfolina o la tiomorfolina.

Más tarde se retomaron los estudios de moléculas con posible efecto antihipertensivo en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, en el Laboratorio de Química Medicinal a cargo del Dr. Enrique Ángeles Anguiano, llevando a cabo la síntesis de los compuestos Morfoílicos, Tiomorfolinmicos y Piperidínicos con clave LQM. Donde se procedió a la síntesis de compuestos análogos de la región 2 de la changrolina mediante la reacción química entre un fenol sustituido (cabeza de la seria), un formaldehido y 2 moléculas de tiomorfolina por medio de una mecanismo de Sustitución Electrofílica Aromática, obteniendo así el compuesto LQM319.^{40,41,42}

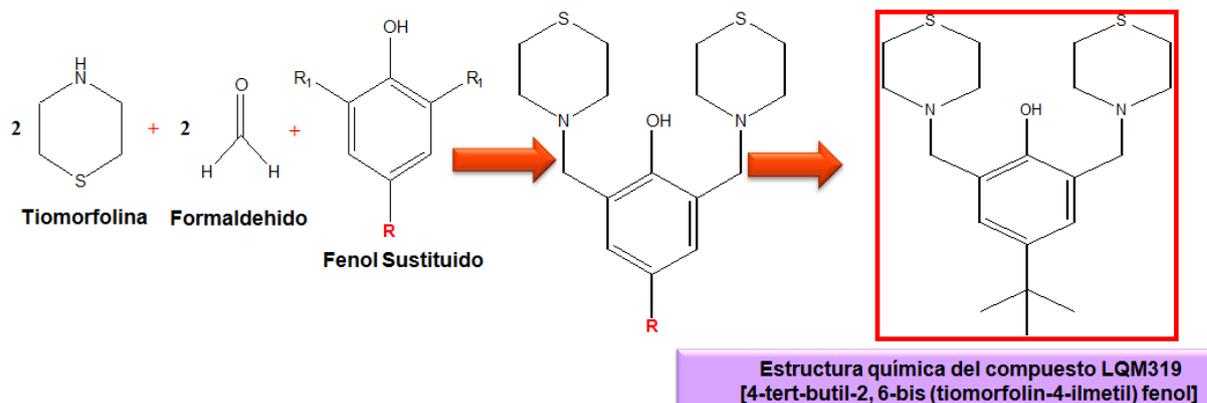


Fig. 13 Reacción Química para la Síntesis de compuestos LQM Ditiomorfolinico (FUENTE. Laboratorio de Química Medicinal, FESC)

Para evaluar el compuesto y compararlo con fármacos que se encuentran en el mercado, se llevan a cabo estudios de actividad biológica en el Laboratorio de Farmacología del Miocardio de la misma Institución a cargo de la Dra. Luisa Martínez Aguilar.

En el año 2011 el Dr. Angeles mostró mediante estudios de Docking que el compuesto LQM319 presenta afinidad por la Enzima Convertidora de Angiotensina, a partir de esta situación se inicia nuestra valoración.^{40,41,42}

Dentro de los estudios de actividad biológica en rata se ha demostrado el compuesto LQM319 presenta diversos efectos en problemas de salud cardiovascular como el efecto antiaritmico, además de tener un actividad vasodilatadora, en otras evaluaciones se demuestra un efecto hipotensor en rata Normotensa y un efecto antihipertensivo en rata SRH. Además de presentar un efecto vasorelajante y vasodilatador en evaluaciones dadas en curvas dosis-respuesta, todos estos en semejanza con el iECA, captopril. Además de comprobarse que es un inhibidor no competitivo dentro del sistema.^{40,41,42}

3. OBJETIVO

3.1 Objetivo General

- Evaluar el efecto cardioprotector del Captopril y LQM319 en el infarto miocárdico mediante la determinación de los niveles séricos de los biomarcadores cardíacos como isoenzima CK-MB, Mioglobina y Troponina I después de 24 h y 48 h de oclusión coronaria utilizando Pruebas Comerciales específicas para conocer si estos disminuyen el daño celular.

3.2 Objetivos Particulares

- Inducir el infarto miocárdico mediante la oclusión permanente de la arteria coronaria descendente anterior izquierda en rata Wistar macho.
- Determinar el área de infarto miocárdico después de 24 h y 48 h de oclusión coronaria mediante la relación del área total y el área necrosada de ventrículo izquierdo de los grupos sin y con tratamiento
- Evaluar el efecto del captopril y LQM319 en una dosis de 1 mg/Kg/día por vía intramuscular después 24 h y 48 h de infarto miocárdico mediante la determinación sérica del biomarcador CK-MB utilizando la prueba para la determinación cuantitativa.
- Evaluar el efecto del captopril y LQM319 en una dosis de 1 mg/Kg/día por vía intramuscular después 24 h y 48 h de infarto miocárdico mediante la determinación sérica del biomarcador Troponina I utilizando la prueba de un paso de Troponina I estilo casete para suero.
- Evaluar el efecto del captopril y LQM319 en una dosis de 1 mg/Kg/día por vía intramuscular después 24h y 48 h de infarto miocárdico mediante la determinación sérica del biomarcador Mioglobina utilizando la prueba de un paso de Mioglobina estilo casete para suero.

4. HIPÓTESIS

Se sabe que el Captopril y LQM319 han mostrado efecto en la reducción de la extensión del infarto miocárdico por lo que se espera que el compuesto Captopril y LQM319 disminuyan los niveles séricos de los biomarcadores de daño cardíaco como isoenzima CK-MB, Troponina I y Mioglobina; que se elevan después de un IAM.

5. MATERIAL Y METODOS

5.1 Material Biológico

Se utilizaron ratas Wistar macho con un peso de 300 a 350 gramos jóvenes. Los animales fueron proporcionados por el bioterio del CINVESTAV-IPN. El manejo óptimo de los sujetos de experimentación se llevó a cabo con base en la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 "Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio".

Para el estudio de los biomarcadores cardíacos se estudiaron en cuatro diferentes protocolos realizados a tiempos de 24 y 48 h realizando pruebas en un grupo control, grupos testigo y grupos tratados.

Grupo Control: n = 5 ratas Wistar macho

Sin inducción de infarto miocárdico por oclusión coronaria descendente anterior izquierda.

Grupos Controles Positivos. 5 ratas Wistar macho. A 24 h y 48 h de inducción de infarto miocárdico por oclusión coronaria descendente anterior izquierda

Grupos Tratados: Captopril y LQM319 en una dosis 1 mg/kg/día i.m. 5 ratas Wistar macho a 24 h y 48 h de inducción de infarto miocárdico por oclusión coronaria descendente anterior izquierda

5.2 Muestras utilizadas

La razón principal para extraer sangre de las arterias es que se pueden obtener grandes muestras rápidamente y de manera relativamente fácil. Se llevó a cabo con toma de muestra de sangre entera a

partir de una punción cardíaca. Se anestesió a la rata con Pentobarbital en una dosis de 40 mg/Kg i.p. Se localizó el corazón palpando el esternón, aquí se puncionó el ventrículo izquierdo, introduciendo una aguja de 25 mm x 21-23G y un tubo con anticoagulante de heparina para las determinaciones. Habiendo tomado 5ml de muestra se centrifuga a 3500rpm x 5 min, obteniendo plasma que se tomó como muestra para las pruebas de los biomarcadores cardíacos.

5.3 Reactivos

* ISOENZIMA MB DE LA CREATÍN QUINASA (CK-MB, Ref. 911-10)

Las isoenzimas creatina-kinasa pueden separarse e identificarse por una variedad de métodos inmunológicos. Los procedimientos de inmunoprecipitación requieren del uso de sueros anti-M para precipitar las isoenzimas CK-MM y CK-MB. Esto permite la determinación de la actividad de CK-BB.

El ensayo actual emplea una técnica de inmunoinhibición, la cual es mucho más rápida y más sencilla que las técnicas usadas anteriormente. Gerhardt y Waldenstrom demostraron que la actividad de la creatina-kinasa subunidad B en suero, puede ser medida rutinariamente como actividad residual después de exponer el suero a un anticuerpo específico producido en la cabra. Dicho anticuerpo es capaz de inhibir la actividad de la subunidad M de la creatina-kinasa humana. La actividad residual resultante de la subunidad CK-B es medida a través de un ensayo cinético de N-acetilcisteína activada, el cual mide el incremento en absorbancia a 340nm debido a la formación de NADPH. Este método asume una actividad insignificante de la isoenzima CK-BB ya que está normalmente presente en niveles menores a los del límite de detección del ensayo.

Los reactivos utilizados vienen listos para su uso:

- Reactivo 1. Solución de sustrato (después de la reconstitución) contienen: 20mmol/L NAC, 2.1mmol/L ATP, 5mmol/L AMP, 2.1mmol/L NADP 10µmol/L AP5A, 30mmol/L CP, >2500 U/L hexokinasa (levadura) 1500 U/L G-6 PDH (levadura) estabilizadores y un conservador.
- Reactivo 2. Solución Buffer contiene: buffer, pH 6.8 a25°C, 21 mmol/L D-glucosa, estabilizadores y un conservador.

Si las muestras tienen una actividad de la CK- MB total superior a 500 U/L a 37°C, se repite el análisis con un volumen reducido de muestra diluyendo con solución salina al 0.9%, pues de lo contrario no se garantiza la inhibición completa. Los valores esperados de CK-MB son ≥ 25 U/L a 37°C

- * MIOGLOBINA PRUEBA DE UN PASO ESTILO CASETE PARA SUERO (MARCA DIAGNOSTICS Cat. IND. 810-1)

La prueba de un Paso de Mioglobina estilo casete es una ayuda para la determinación de Mioglobina en suero / plasma humano. Con algunas gotas de la muestra, esta prueba puede rápidamente proporcionar un resultado cualitativo y visual para demostrar la presencia o la falta de Mioglobina dentro de unos cuantos minutos. Los sujetos a prueba con niveles elevados de Mioglobina generalmente indican un diagnóstico del infarto miocárdico. El reactivo utilizado viene listo para uso en casete:

Ingredientes activos:

- * Los anticuerpos recubiertos:

Control de la región: (Ig G) anticuerpo policlonal

Prueba de la región: anti-mioglobina, anticuerpo A

Anticuerpos marcados: anticuerpo monoclonal anti-mioglobina; anticuerpo B.

- * TROPONINA PRUEBA DE UN PASO ESTILO CASETE PARA SUERO, PLASMA, SANGRE TOTAL (MARCA DIAGNOSTICS; Cat.IND. 810-1)

La prueba de Un Paso de Troponina I Cardíaca (cTnI) de estilo casete usado para determinar cTnI en sangre total; suero ó plasma humano, con algunas gotas de la muestra, esta prueba puede proporcionar rápidamente un resultado visual para indicar la presencia o la falta de cTnI en cuestión de min. Los sujetos de prueba con niveles de cTnI indican un diagnóstico de infarto miocárdico.

Ingredientes activos:

* Los anticuerpos recubiertos:

Control de la región: (Ig G) anticuerpo policlonal

Prueba de la región: anti-cTnI anticuerpo A

Anticuerpos marcados: anticuerpo monoclonal anti-cTnI; anticuerpos B.

5.4 Materiales

- Material de Laboratorio
- ✓ Matraz Erlenmeyer
- ✓ Espátula
- ✓ Caja Petri
- ✓ Vasos de precipitados 250 ml y 500 ml
- ✓ Estuche de disección
- ✓ Canastilla para animales
- ✓ Viales ámbar
- ✓ Jeringas de insulina 1.0 mL
- ✓ Sistema de extracción de sangre con aguja (S-MONOVETTE®)
- ✓ Piseta
- ✓ Gradilla
- ✓ Tubos de ensayo 3 mL
- ✓ Termómetro
- ✓ Micropipetas de 50 μ L y 1000 μ L
- ✓ Celdas de flujo 1cm de cuarzo.
- ✓ Gotero

- Material para oclusión coronaria

- ✓ Pinzas de mosquito
- ✓ Pinzas de presión
- ✓ Pinzas de diente de ratón
- ✓ Pinzas de sutura
- ✓ Tijeras
- ✓ Cámara de anestesia
- ✓ Perilla
- ✓ Agujas atraumáticas
- ✓ Hilo seda de 5/0 (ocluidor la arteria coronaria) y de 2/0 (suturar piel)
- ✓ Algodón
- ✓ Lámpara

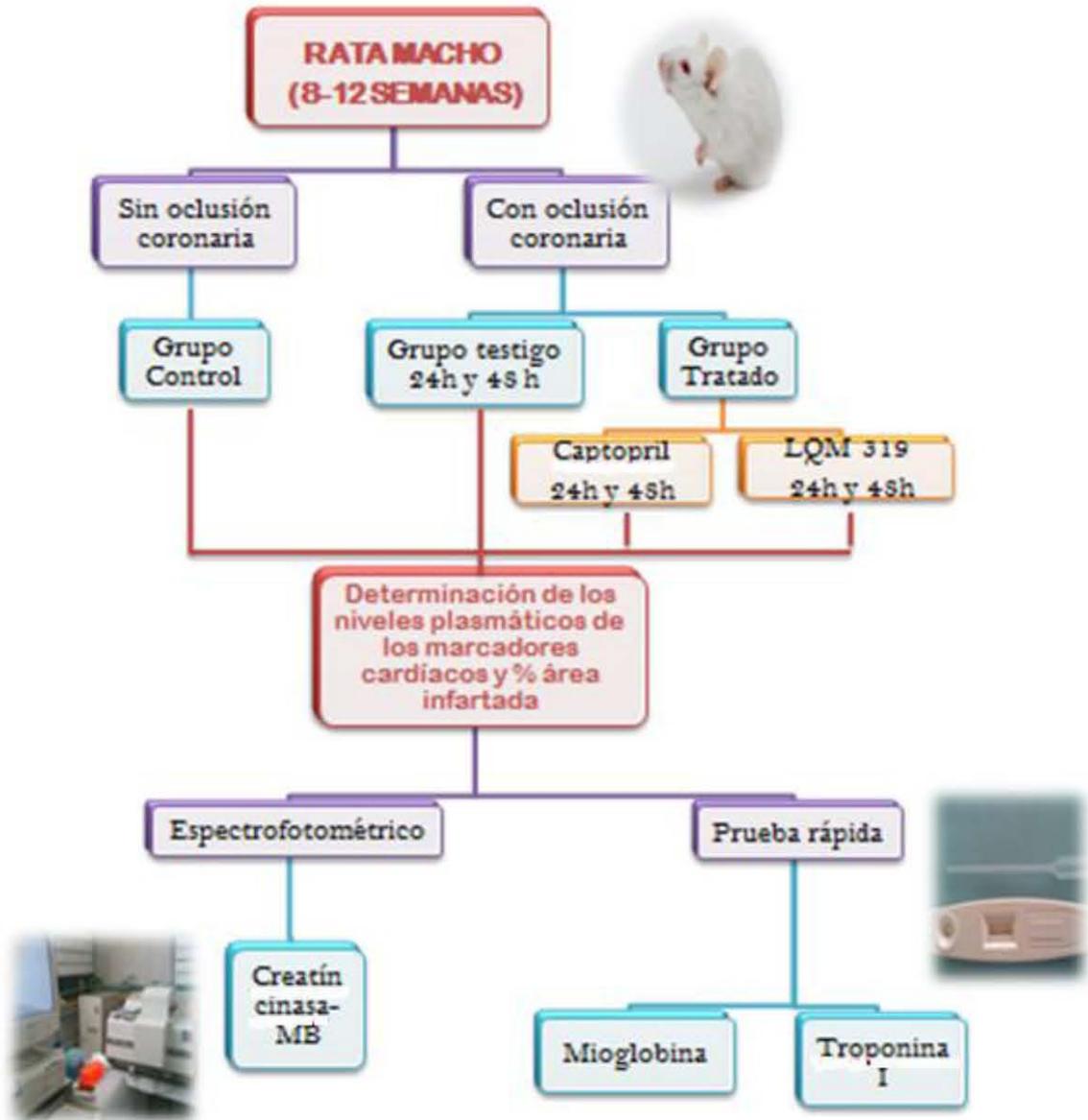
- Reactivos

- ✓ Ácido Clorhídrico (0.01M)
- ✓ Cloruro de Sodio PISA® (0.9% solución inyectable)
- ✓ Agua desionizada MILLI-Q
- ✓ Éter
- ✓ Pentobarbital sódico al 6.5%

5.5 Equipos

- ✓ Balanza analítica(SARTORIUS®, BL60S 0.1mg- 60 g)
- ✓ Balanza Granataria para animales (OHAUS ® 0.1- 2610g)
- ✓ Baño María Analógico (THERMO FISHER® 12L)
- ✓ Espectrofotómetro CARY 1E UV-VIS (VARIAN, INC)
- ✓ Centrifuga (4000 rpm)

5.6 Diseño experimental



5.6.1 Pretratamiento con fármacos captopril y compuesto LQM319

Se pesan las ratas (n= 5+1), se administró la dosis del fármaco en 0.1mL de solución salina con jeringa vía intramuscular.



Fig. 14 Tratamiento de rata Wistar Macho por vía intramuscular (Laboratorio de Farmacología del Miocardio)

- Se realiza la solución de Captopril a una dosis de 1.0 mg/kg i.m. Se prepara un estimado para 8 ratas a concentración 1mg/kg de peso en 0.1mL.

$$1\text{mg/kg (peso promedio (g)/ 0.1ml) } 0.9\text{mL} = \text{g de captopril}$$

Se pesan los gramos de captopril calculados en la balanza analítica. Se diluye el captopril en 0.9 mL de solución salina fisiológica (0.9%).

- Se realiza el tratamiento de LQM319 a una dosis de 1.0 mg/kg. Se prepara un estimado para 8 ratas a concentración 1mg/kg de peso en 0.1 mL.

$$1\text{mg/kg (peso promedio (g)/ 0.1ml) } 0.9 \text{ mL} = \text{gramos de LQM 319}$$

*Se pesan los gramos de LQM 319 calculados en la balanza analítica.

*Se coloca el LQM 319 en 0.3 mL de HCL 0.01 M, para tener una mejor solubilización.

*Se diluye lo anterior en 0.7 mL de solución salina fisiológica (0.9%).

5.6.2 Inducción de infarto miocárdico por oclusión coronaria descendente anterior izquierda in vivo. Se realizó una cirugía por ligadura permanente.



Fig. 15 Cirugía por Oclusión Coronaria

Se colocó la rata dentro de la cámara de anestesia, se rasuró el área del costado y se realizó la incisión de piel y músculo para llevar a cabo una toracotomía entre el 4° y 5° espacio intercostal. Se extrajo el corazón, se localizó la arteria coronaria y se ligó con hilo seda de 5/0 mediante una aguja atraumática. Posteriormente se regresó el corazón y se suturaron el músculo y la piel y se permitió la recuperación del animal.⁴²

5.6.3 Obtención de muestras

Se llevó a cabo con toma de muestra de sangre entera a partir de una punción cardíaca para tener al grupo control.

- ✓ Se anestesió a la rata con Pentobarbital Sódico (6.5%) y se localizó el corazón palpando el esternón, aquí se puncionó el ventrículo izquierdo, introduciendo una aguja de 25 mm x 21-23G, ayudado del Sistema de extracción de sangre heparinizado. Habiendo tomado la muestra de sangre se lleva a un tubo para ser centrifugado a 3500rpm x 5 minutos en la centrifuga, obteniendo plasma que se tomaron como muestra para las pruebas de los biomarcadores cardiacos.



Fig. 16 Sistema S-MONOVETTE

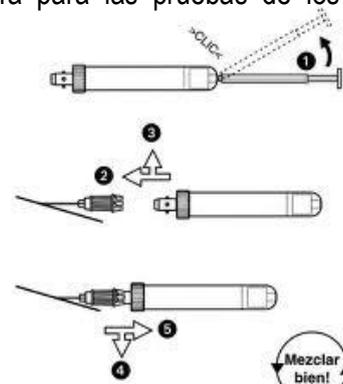


Fig. 17 Funcionamiento del Sistema S-MONOVETTE

5.6.4 Técnicas para la determinación de biomarcadores cardiacos

Después de obtener la muestra de plasma, se colocó en el refrigerador a una temperatura de 4°C, ya que la actividad de las enzimas es inestable y puede perderse en un almacenamiento prolongado hasta de 24 h; por lo cual son trabajadas el mismo día después de haber concluido con todas las tomas de muestra.

A continuación se mencionan las técnicas a seguir de acuerdo a los insertos de cada uno de los kits utilizados.

5.6.4.1 Determinación cuantitativa

5.6.4.1.1 Isoenzima CreatínCinasa MB

- a) Preparar el reactivo agregar buffer de acuerdo al volumen marcado en la etiqueta del frasco (2.5 mL).
- b) Mezclar y esperar 5 min para la reconstitución y mezclar suavemente, no debe ser turbio.
- c) En tubos separados pipetee 1mL de reactivo e incubar a 37°C en Baño María.



Fig. 18 Baño María Analógico, THERMO FISHER® 12L
(FOTOGARÍA TOMADA EN UIM, FESC CAMPO 4)

- d) Agregar 40 µL de plasma, mezclar e incubar 10 min.

- e) Leer absorbancia contra agua desionizada a 340nm. (A1)*
- f) Registrar la absorbancia a los 4 minutos (A2)*

5.6.4.2 Método en Analizador Espectrofotómetro UV*



Fig.19Espectrofotómetro UV/VIS CARY 1E UV-VIS (VARIAN, INC)
(FOTOGARÍA TOMADA EN UMI, FESC CAMPO 4)

- a) Se utilizan celdas de cuarzo de 1mL previamente limpias
- b) Se enciende el Espectrofotómetro y después el sistema de registro (computadora).

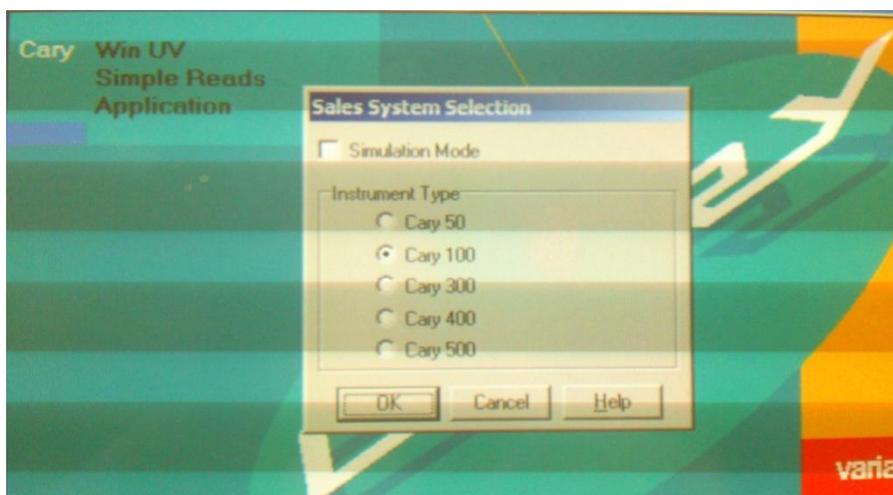


Fig 20. Programa Analizador “SIMPLE READS APPLICATION VARIAN®”

- c) Se selecciona el programa analizador “SIMPLE READS APPLICATION VARIAN®” que se utiliza para comenzar el registro; se pulsa en el programa “SETUP” para colocar la longitud de onda deseada, en este caso 340nm.
- d) Se coloca agua desionizada (MILLI-Q) en las celdas de cuarzo y se llevan a los carriles correspondientes donde se hace pasar el haz de luz, con el fin de obtener los blancos. Se pulsa dentro del programa en “ZERO” para tener el blanco dentro del programa.

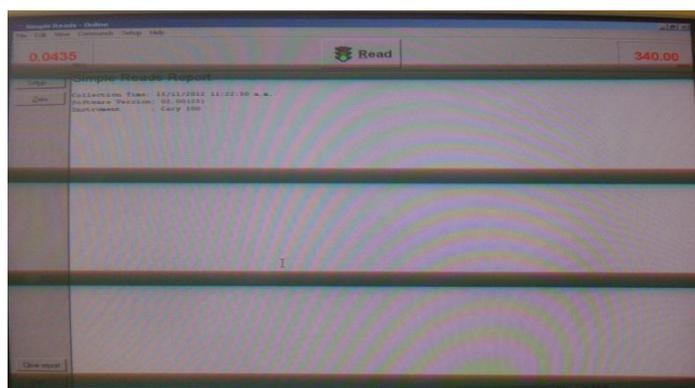


Fig 21. Programa Analizador “SIMPLE READS APPLICATION VARIAN®” en proceso de lectura.

- e) En una de las celdas se coloca la muestra y se vuelve a colocar en el carril correspondiente para su lectura. Se pulsar “READ” para obtener la primera lectura, sin sacar la celda, a los 4 min exactos se vuelve a pulsar “READ” para la segunda lectura.
- f) Al término de todas las lecturas se coloca “CLEAR ALL” para borrar todos los datos y concluir con el procedimiento; hasta apagar el equipo.

5.6.4.3 Método de un Paso Estilo Casete



Fig. 22 Casete para prueba rápida

(FUENTE. KIT DE PRUEBA DE UN SOLO PASO PARA MYO Y TROPONINA cTnI)

5.6.4.4 Troponina I cardíaca estilo casete para suero.

Colocar todos los componentes de prueba y muestras del paciente a temperatura ambiente. Se retira el dispositivo de prueba después de romper la bolsa, entonces se coloca sobre una superficie plana y limpia. Usando un gotero, transfiere 3 gotas de suero al pozo de muestra del dispositivo de prueba hasta obtener las bandas de color. Dependiendo de la concentración de cTnI en la muestra de prueba, los resultados positivos pueden ser observados en pocos segundos.

5.6.4.1.1 Mioglobina estilo casete para suero.

Colocar todos los componentes de prueba y muestras de paciente a temperatura ambiente. Se retira el dispositivo de prueba después de romper la bolsa, entonces se coloca sobre una superficie plana y limpia.

Depositar el suero en la pipeta provista y distribuir 2 gotas (aproximadamente 80 μ L) dentro de pozo de la muestra del casete. Hasta la aparición de las bandas de color. Dependiendo de la concentración de Mioglobina en la muestra de prueba, los resultados positivos pueden ser observados en pocos segundos.

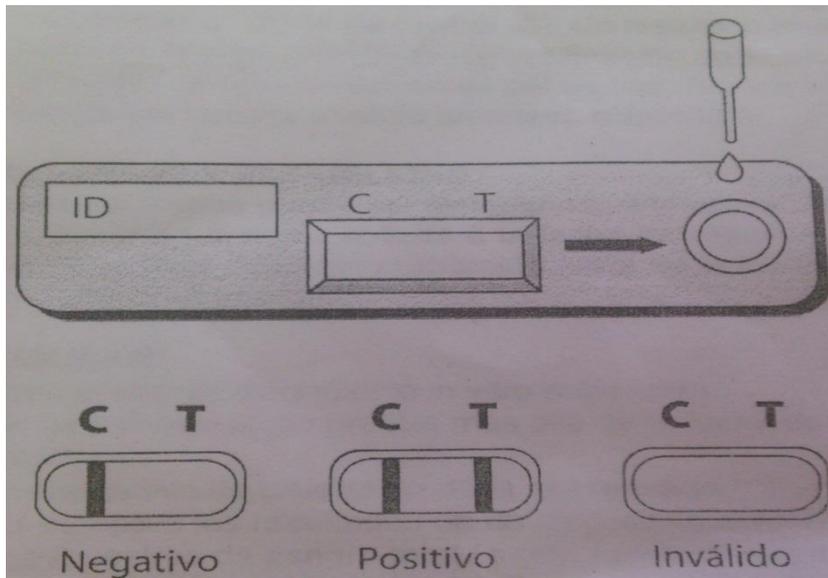


Fig. 23 Ejemplo de resultados para el Método Estilo Casete
(FUENTE. KIT DE PRUEBA DE UN SOLO PASO PARA MYO Y TROPONINA cTnl)

5.6.5 Valores de referencia

Los límites de referencia o normalidad utilizados son los establecidos por el laboratorio en función a la metodología utilizada. Estos límites se resumen en la siguiente tabla:

Tabla.2 Valores de referencia en IAM

MARCADOR	VALORES DE REFERENCIA
CK-MB	7-25 U/L a 37 °C
Mioglobina	19-92 ng/mL
cTnl	>1,5 ng/mL en IAM

6. RESULTADOS

En este trabajo se determinaron las concentraciones de la isoenzima CK-MB, proteína Troponina y proteína Mioglobina en ratas Wistar macho sin oclusión coronaria, oclusión coronaria de 24 h, 48 h, tratamiento con Captopril y el compuesto LQM319 tanto a 24 h como a 48 h de oclusión coronaria.

En la gráfica 1a se muestra la determinación de la isoenzima CK-MB en U/L en comparación con los diferentes grupos experimentales a las 24 h de oclusión coronaria. Como podemos observar, para los grupos con oclusión coronaria + tratamiento con Captopril se obtuvieron 90 U/L y con el compuesto LQM319 120 U/L. Se realizó un ANOVA con un nivel del 95.0% de confianza, donde puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de los 3 grupos.

En la gráfica 1b se muestra la comparación de los diferentes grupos experimentales en la determinación de isoenzima CK-MB en U/L a las 48 h de oclusión coronaria. Los resultados muestran que en el grupo testigo con oclusión coronaria fue de 30U/L y para los grupos con oclusión coronaria + tratamiento previo de Captopril se obtuvo 90 U/L y con el compuesto LQM 319 se obtuvo un valor de 30 U/L. Se realizó un ANOVA con un nivel del 95% de confianza, donde puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de los 3 grupos.

En la gráfica 2a se muestra la determinación de la proteína Troponina en ng/ml en comparación con los diferentes grupos experimentales a las 24 h de oclusión coronaria. Se determinó que para el grupo testigo de oclusión coronaria fue de 50 ng/ml, para los grupos con oclusión coronaria + tratamiento previo de Captopril 15 n/ml y con el compuesto LQM319 se obtuvo 10 ng/mL. Se realizó un ANOVA con un nivel del 95% de confianza, donde puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0.05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 3 variables. Lo que quiere decir que existe una disminución significativa de la Troponina con los dos tratamientos.

En la gráfica 2b se muestra la comparación de los diferentes grupos experimentales en la determinación de proteína Troponina I a las 48 h de oclusión. En este caso se observa que para el grupo testigo con oclusión coronaria fue de 40 ng/ml y para los grupos con oclusión coronaria + tratamiento previo de

Captopril se obtuvo 10 ng/ml de la proteína y con el compuesto LQM319 5 ng/ml. Se realizó un ANOVA con un nivel del 95% de confianza, donde puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0.05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de los 3 grupos. Lo que quiere decir que tanto el Captopril como el LQM 319 disminuyeron significativamente la cantidad de proteína en suero.

Los resultados para la proteína Mioglobina a las 24 h y 48 h se muestran en las gráficas 3a y 3b, respectivamente. Claramente se observa que para ninguno de los tiempos así como de los tratamientos no se obtuvo algún cambio.

Para tener un mejor control de nuestras ratas con oclusión de la arteria coronaria izquierda se obtuvieron valores sobre el porcentaje de área afectada; donde en estas encontramos que al grupo con tratamiento de LQM319 disminuye el área de necrosis respecto al área de infarto en ratas sin tratamiento; esto se puede mostrar en las tablas siguientes.

6.1 Resultados del porcentaje de área necrosada en los diferentes grupos.

Tabla.3 Porcentaje de área de infarto miocárdico después de 24 h de oclusión sin y con tratamiento.

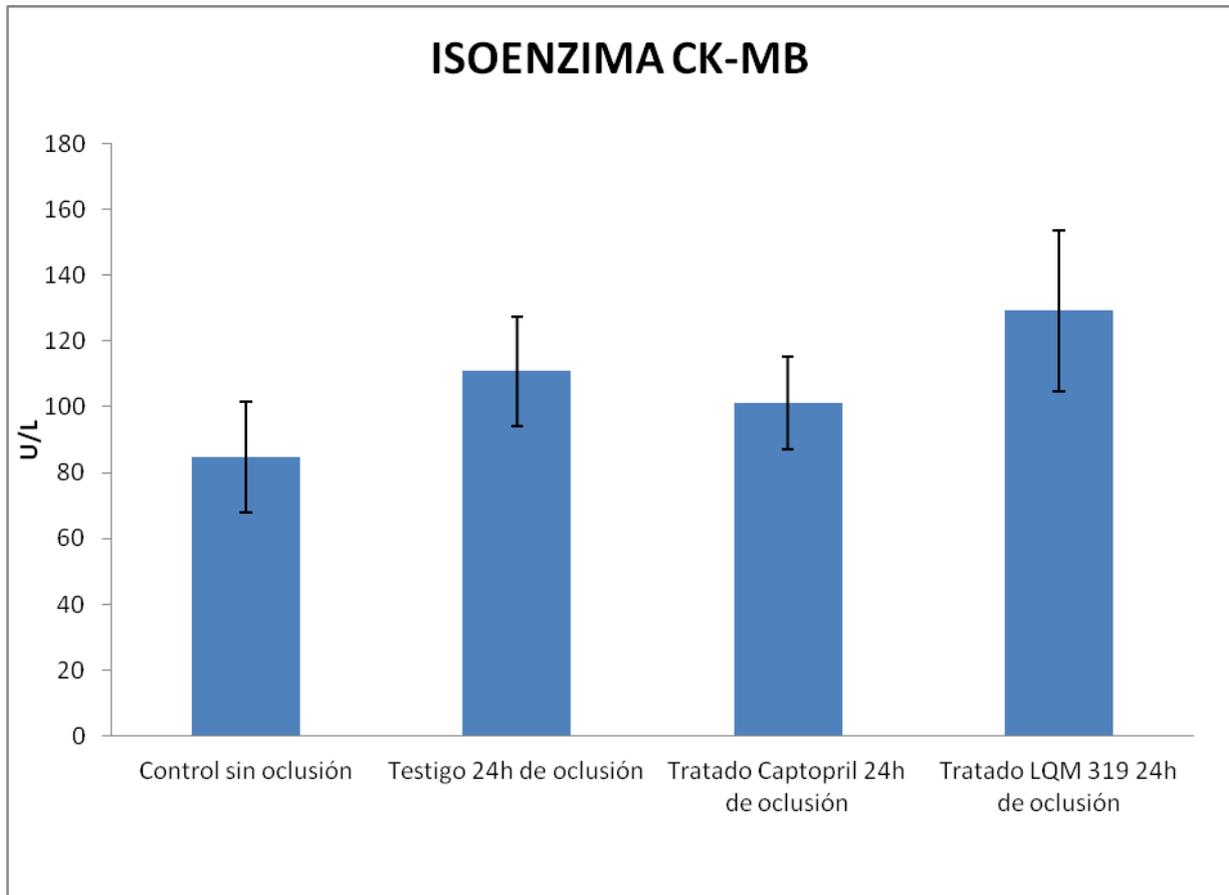
	OCCLUSIÓN CORONARIA	CAPTOPRIL	LQM319
PROMEDIO	53.472 %	37.356 %	24.462 %
DESVIACION ESTÁNDAR	± 25.3	± 6.8	± 4.4
ERROR ESTÁNDAR	± 11.3	± 3.0	± 2.0

Tabla.4 Porcentaje de área de infarto miocárdico después de 48 h de oclusión sin y con tratamiento.

	OCCLUSIÓN CORONARIA	CAPTOPRIL	LQM319
PROMEDIO	39.91 %	33.084 %	22.372 %
DESVIACION ESTÁNDAR	± 7.4	± 7.8	± 2.5
ERROR ESTÁNDAR	± 3.3	± 3.5	± 1.1

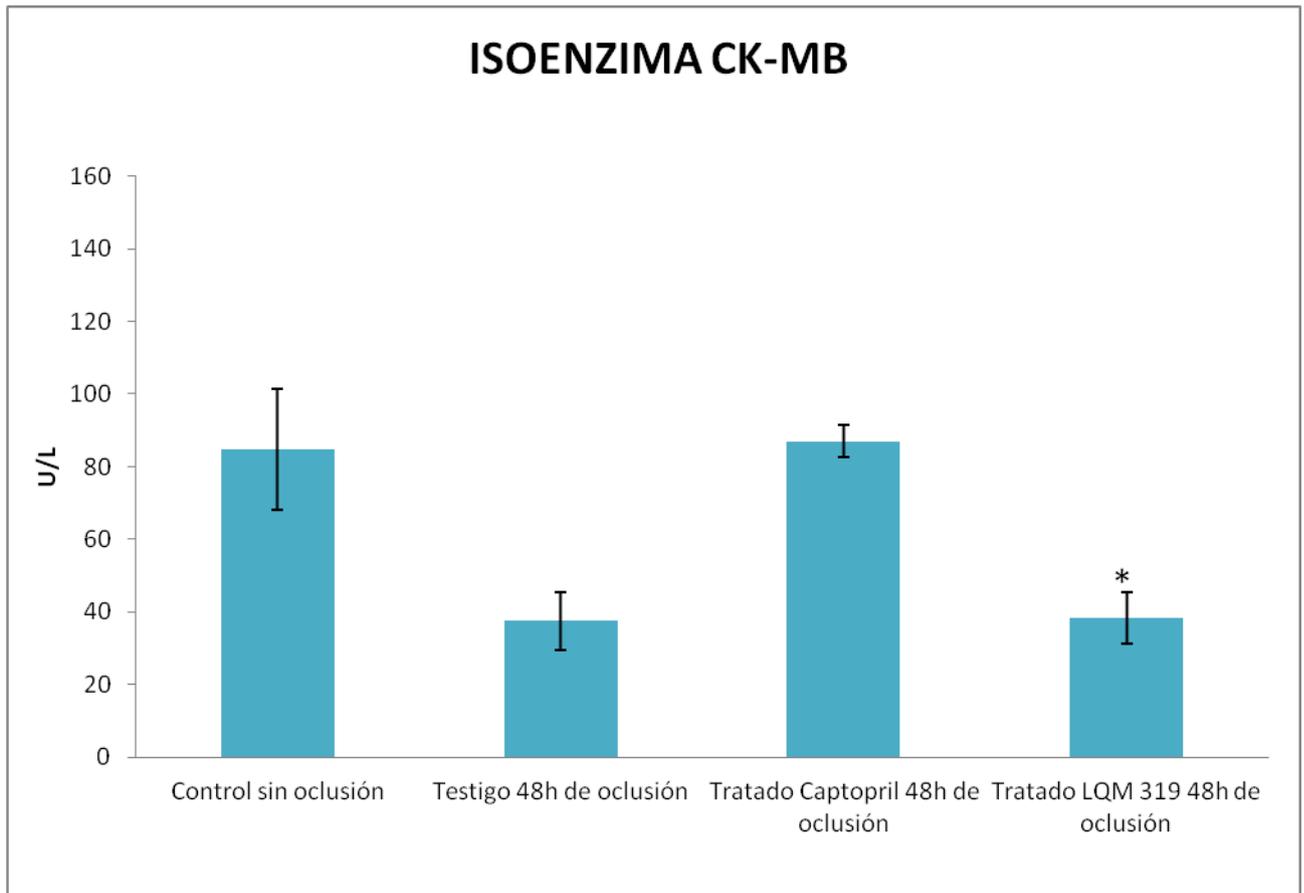
6.2 Resultados de los biomarcadores cardiacos

6.2.1 Determinación de la Isoenzima CK-MB post-infarto miocárdico 24 h de oclusión.



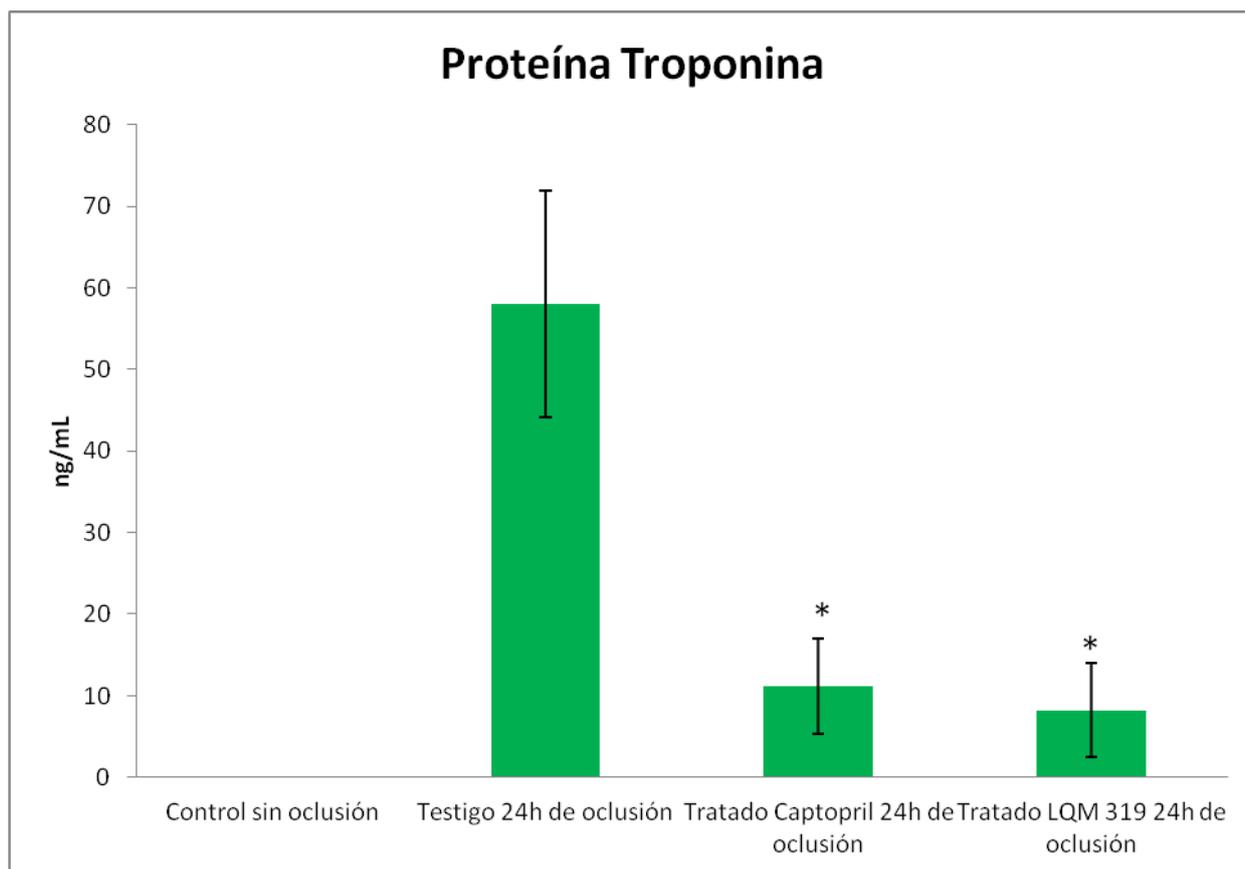
Gráfica 1a. En esta gráfica se muestran los resultados de CK-MB (U/L) en modo de comparación de todos los grupos; iniciando por los grupos control y testigo, consecuente de las determinaciones que se realizaron a las 24 h en grupos con tratamiento. ANOVA con un 95.0% de confianza no existe una diferencia significativa.

6.1.1 Determinación de la Isoenzima CK-MB post-infarto miocárdico 48 h de oclusión.



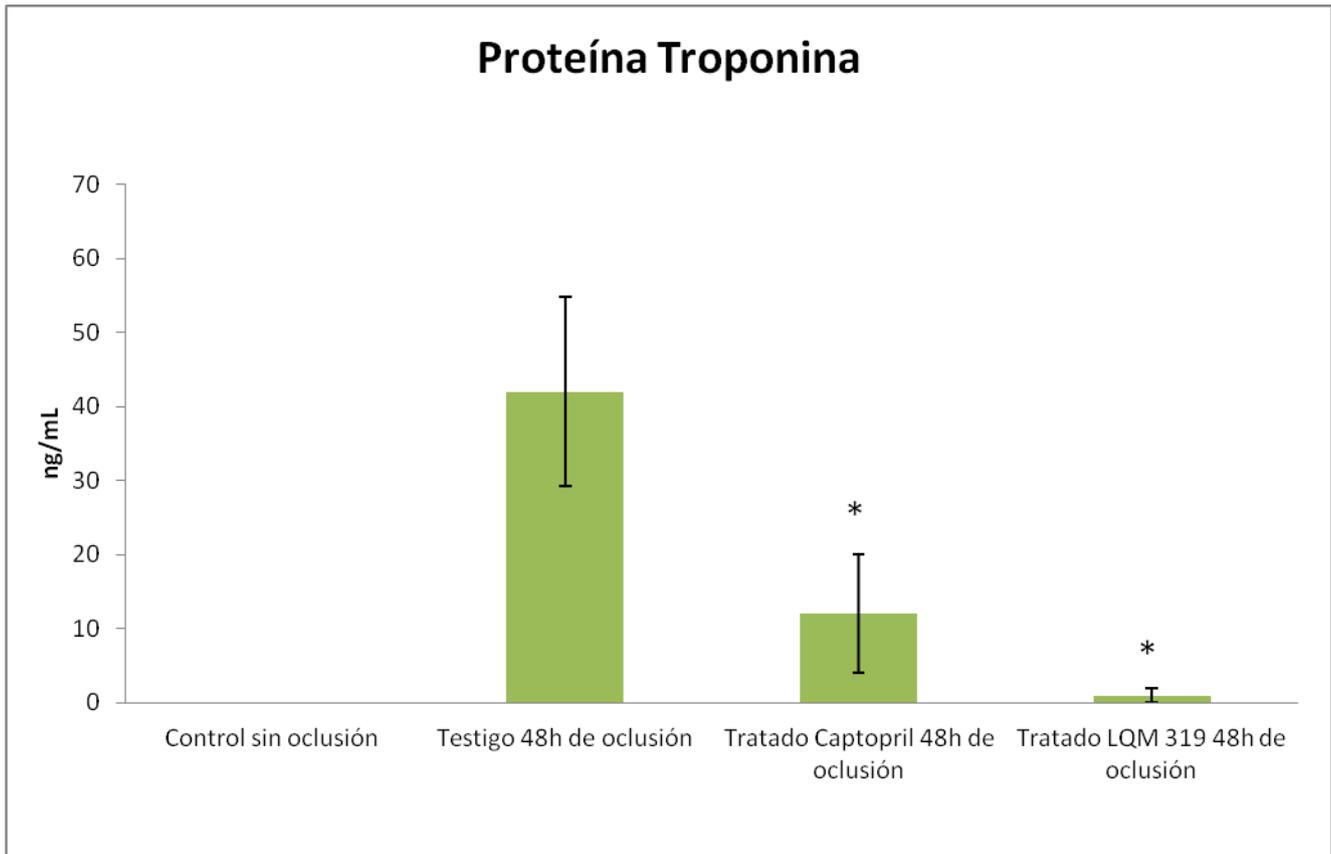
Gráfica 1b. En esta gráfica se muestran los resultados de CK-MB (U/L) en modo de comparación de todos los grupos; iniciando por los grupos control, consecuente de las determinaciones que se realizaron a las 48 h en grupos con tratamiento. ANOVA con un 95.0% de confianza no existe una diferencia significativa; en los grupos marcados (*) con respecto a los otros grupos.

6.1.2 Determinación de la proteína Troponina I pos-infarto 24 h de oclusión.



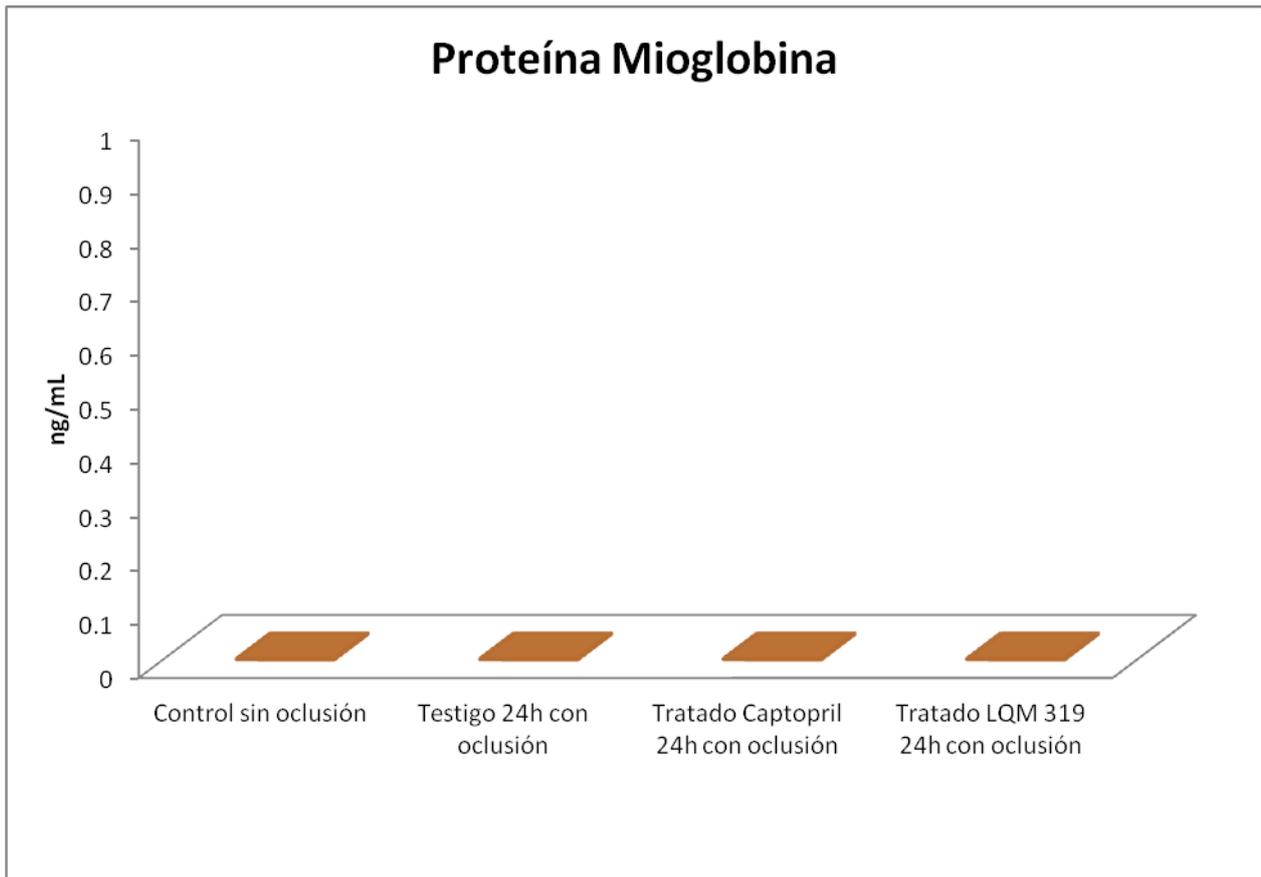
Gráfica 2a. En esta gráfica se muestran los resultados de cTnI (ng/mL) en modo de comparación de todos los grupos; iniciando por los grupos control y testigo, consecuente de las determinaciones que se realizaron a las 24 h en grupos con tratamiento. ANOVA con un nivel del 95% de confianza existe una diferencia significativa; en los grupos marcados (*) con respecto a los otros grupos.

6.1.3 Determinación de la proteína Troponina I pos-infarto 48 h de oclusión.



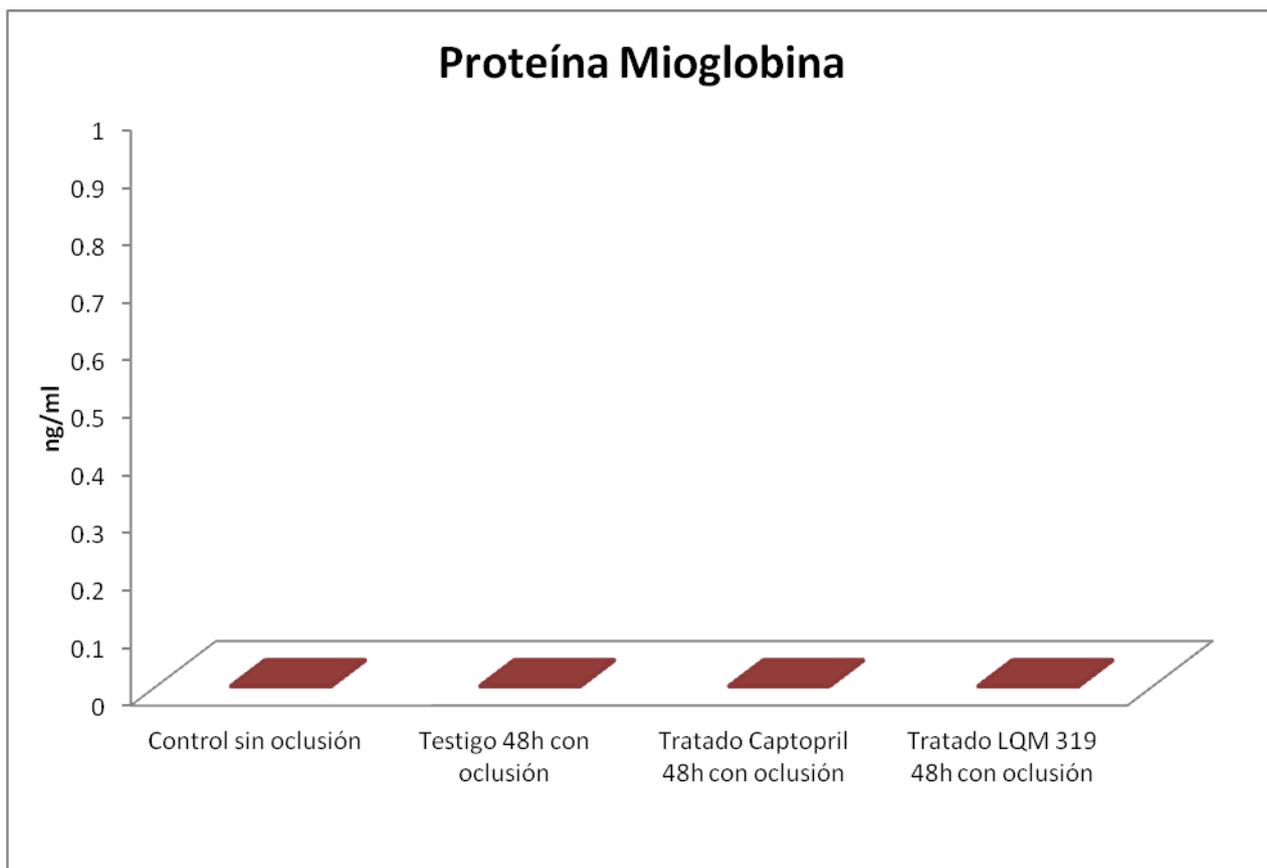
Gráfica 2b. En esta gráfica se muestran los resultados de cTnI (ng/mL) en modo de comparación de todos los grupos; iniciando por los grupos control, consecuente de las determinaciones que se realizaron a las 48 h en grupos con tratamiento. ANOVA con un nivel del 95% de confianza existe una diferencia significativa; en los grupos marcados (*) con respecto a los otros grupos.

6.1.4 Determinación de la proteína Mioglobina pos-infarto 24 h de oclusión.



Gráfica 3a. En esta gráfica se muestran los resultados de Myo (ng/mL) comparando con todos los grupos; iniciando por los grupos control y testigo, consecuente de las determinaciones que se realizaron a las 24 h en grupos con tratamiento.

6.1.5 Determinación de la proteína Mioglobina pos-infarto 48 h de oclusión.



Gráfica 3b. En esta gráfica se muestran los resultados de Myo (ng/mL) comparando con todos los grupos; iniciando por los grupos control y testigo, consecuente de las determinaciones que se realizaron a las 48 h en grupos con tratamiento.

7. ANALISIS DE RESULTADOS

Las enfermedades cardiovasculares son una de las primeras causas de mortalidad en todos los países industrializados, dentro de ellos se encuentra México, donde las enfermedades cardiovasculares ocupan el segundo lugar como causa de mortalidad después de la diabetes y en varios países industrializados, ha llegado a ocupar la primera causa de muerte por lo que las investigaciones y sus resultados expresados en tratamientos novedosos, han aumentado.^{2, 3}

El problema es que las enfermedades cardiovasculares no afectan solamente a personas mayores, también se revelan muchos datos de niños y jóvenes con serios problemas en la formación de ateromas, el engrosamiento de las arterias, la formación de trombos o coágulos y otros problemas que derivan en infartos, insuficiencia cardiaca, trombosis, aterosclerosis o espasmos musculares del corazón.^{2, 3}

Dentro de este grupo de enfermedades, el Infarto Miocárdico, es el de mayor importancia, para el cual se llevan a cabo gran número de investigaciones en el desarrollo de nuevos fármacos, que además de demostrar mejorías se producen con un nuevo impacto frente a la enfermedad.^{1,2, 3}

Desde principios del siglo XIX en nuestro país, los fármacos disponibles para la terapéutica, se encontraban en preparaciones crudas de plantas, animales o minerales. Posteriormente, debido al desarrollo de la experimentación fisiológica, y de la química medicinal en países Europeos, el aislamiento, purificación e identificación de componentes activos de viejas preparaciones, así como la síntesis de nuevos fármacos, se hizo posible.^{46,47}

En la Unidad de Posgrado de la FES-CUAUTITLÁN se encuentra el Laboratorio de Farmacología del Miocardio, donde se realizan las pruebas farmacológicas a nuevos compuestos, los cuales pueden presentar actividades benéficas sobre el sistema cardiovascular.^{40,41}

En colaboración con el Laboratorio de Química Medicinal se buscan y prueban fármacos, entre los cuales se encuentran nuevos fármacos para diferentes tipos de arritmias cardiacas. Esto ha permitido que por medio del diseño asistido por computadora y síntesis orgánica, se obtuviera una serie de compuestos a lo que se nos ha dado la tarea de compararlos con fármacos que ya se encuentran en el mercado y así probar el comportamiento y eficacia de estos compuestos; para que a partir de esto lleguen a ser prescritos a la población mexicana.^{40,41}

En el desarrollo de estas investigaciones es necesario conocer su modo de acción, metabolismo, excreción así como la relación existente entre el efecto máximo del fármaco y su dosis, donde en una etapa preclínica, el fármaco debe ser rigurosamente sometido a una serie de ensayos biológicos para determinar su eficacia y farmacología. Estos ensayos determinarán el espectro de actividad biológica del nuevo compuesto y ayudarán a aclarar su mecanismo de acción, empleando técnicas para observar reportar y analizar los efectos primarios y secundarios que podría tener la sustancia, este trabajo contribuye a realizar todos estos procedimientos que son necesarios para que el o los nuevos compuestos sean autorizados y funcionales.^{40,41,42,43}

En estudios previos de evaluación farmacológica de la serie de LQM muestran que el compuesto LQM319 presenta diversos efectos en problemas de salud cardiovascular como el efecto antiarrítmico, además de tener un actividad vasodilatadora ,en otras evaluaciones se demuestra un efecto hipotensor en rata Normotensa y un efecto antihipertensivo en rata SHR. Además de presentar un efecto vasorrelajante semejante a Captopril.^{40,41,42,43}

Para caracterizar el efecto del compuesto LQM319 y realizar una comparación de eficacia contra el fármaco Captopril que actúa como iECA, el cual en pacientes con IAM, disminuyen la frecuencia de fallo cardíaco, disfunción ventricular derecha y disminuyen la mortalidad posinfarto. Los mayores beneficios se observan cuando se inicia el tratamiento dentro de las primeras 24 horas siguientes a un infarto.⁴⁷

Entonces en el momento de hospitalización de una persona con síntomas de IAM, son utilizados biomarcadores cardiacos para evaluar la fase en la que se encuentra el paciente, tales son CK-MB (enzimático) además de cTnI y Myo (no enzimáticos) que son bastante específicos para la detección y seguimiento del IAM, dentro de este acontecimiento se administran fármacos de primera elección IECA.^{47,49}

En el presente trabajo se realiza con un modelo in vivo “Inducción de Infarto Miocardico por oclusión coronaria descendente anterior izquierda” para comparar bioquímicamente al fármaco Captopril, que lleva décadas dentro del mercado contra el compuesto Ditiomorfolínico LQM319, desarrollado dentro de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán; evaluando su efecto como Inhibidor de la Enzima Convertidora de Angiotensina en el momento de la formación de la placa y después de esta; con ayuda de marcadores cardiacos enzimáticos y no enzimáticos.

En los últimos años, las moléculas más utilizadas por su cardioespecificidad son las proteínas troponinas I y T cardiacas. La troponina I cardíaca (cTnI) es una molécula ampliamente utilizada en la clínica, en múltiples trabajos se demuestra su utilidad en el diagnóstico del IAM, apoyado por un marcador más sensible, mejora su función. En la necrosis celular que se desarrolla en este proyecto, esta proteína demuestra ser una molécula muy específica. La enzima creatíncinasa aunque no es específica se utiliza en la diagnosis del IAM, sobre todo su isoenzima CK-MB, además de la proteína Mioglobina que debido a su liberación en las primeras horas tras un IAM y su alta concentración en músculo cardíaco, es un marcador muy utilizado desde hace años.^{38,48}

En este proyecto la sensibilidad de estas moléculas fue de suma importancia para exponer la eficacia como cardioprotectora nuestro compuesto LQM319 y ponerlo frente a Captopril; en donde al determinar la isoenzima CK-MB se muestra la eficacia y potencia que tiene el compuesto LQM319 dentro de las primeras 48h de necrosis celular disminuyendo sus niveles y que a diferencia del Captopril que no se disminuyen tan rápido; por esto es utilizado a partir de las 72h postinfarto.

La Troponina cardiaca I, es más específica puesto que en pacientes sanos esta proteína no es detectada en el torrente sanguíneo, recordando que esta proteína disminuye su valor después de las 24h pero en algunos casos perdura hasta 10 días según sea el proceso de recuperación; lo que observamos es que a las 24 h se observa una disminución tanto en el Captopril como con el compuesto LQM319, comprobando que tiene una alta eficacia al disminuir notablemente y a diferencia del Captopril que no la disminuye como nuestro compuesto prueba a nivel cualitativo.^{38,48}

Debido a que el complejo proteico regula la función contráctil, en este caso del músculo cardíaco expresada en las aurículas y en ventrículos nos ayuda a comprender que al administrar cualquier fármaco de la familia iECA se produce una mejor contractilidad miocárdica y con la determinación post-infarto de la troponina I, podemos corroborar el resultado de alta eficacia. Así el principal beneficio aportado por este grupo se pone en marcha a través del bloqueo de la actividad del SRAA, bloqueando la conversión de angiotensina I en angiotensina II, inhibiendo la degradación de bradiquininas y disminuyendo la activación simpática, mecanismos que como mencionamos contribuyen a nivel celular como cardioprotector, ayudando a disminuir la necrosis y daño cardíaco.^{47,49}

En la determinación de la proteína Mioglobina no se logra ver resultados puesto que esta proteína aumenta dentro de las primeras 4 horas y disminuye dentro de las primeras 24h, debido a que se trata de una molécula de bajo peso molecular, se dirige rápidamente hacia la célula miocárdica demandante dentro de las primeras 2 h después de haber ocurrido el IAM y dentro de nuestro estudio no se lograba tener una lectura en el casete a las 24 h y mucho menos a las 48 h; pero que puede darnos un seguimiento en caso de reinfarto.

Al realizar el análisis estadístico ANOVA se demuestra que la Troponina I es el que marca nuestros beneficios en este proyecto, dando un valor significativo alto; puesto que este marcador es esencial para regulación de la contracción del músculo.

Con base en lo anterior se determinó que el compuesto Tiomorfolinico LQM319, muestra un efecto de disminución en un marcador cardiaco específico post-IAM y una reducción en la necrosis provocada en el IAM; lo que nos indicaría que después de la generación del trombo este disminuye con mayor velocidad reduciendo las posibilidades de un re-infarto dentro del periodo hospitalario. El principal mecanismo de acción de los IECA es la reducción del remodelado ventricular y dilatación ventricular⁴⁷ por lo que podemos indicar que tiene un efecto similar al de estos fármacos, lo que provoca una disminución significativa del volumen y de la presión diastólica final del ventrículo izquierdo; reduciendo el tamaño de la necrosis celular post-IAM.

8. CONCLUSIONES

- Induciendo el infarto mediante la oclusión coronaria se logró determinar el área de infarto miocárdico después de 24h o 48h de oclusión coronaria se comprueba que el compuesto LQM319 disminuye y con mejores resultados que el fármaco Captopril.
- Por medio de la determinación de biomarcadores cardiacos, tales como la Troponina I, ck-MB y Mioglobina se logró obtener una evidencia que con el tratamiento del compuesto LQM319 a dosis de 1mg/Kg/día y se tiene un efecto cardioprotector disminuyendo significativamente los marcadores, además de reducir notablemente la necrosis celular medida después del tratamiento.
- Determinando los niveles séricos de los marcadores cardiacos correspondientes al IAM en grupos sin oclusión coronaria y mas tratamiento con Captopril y LQM319, podemos indicar que el marcador ideal para este proyecto es el que tiene alta sensibilidad y especificidad para facilitar la diagnostico es la Troponina I puesto que demuestra significativamente su disminución y colabora notablemente con nuestro proyecto.

9. REFERENCIAS

- 1) Programa de Acción Especifico (2007-2012) "Riesgo Cardiovascular" Grupo Editorial Rat, S.A. México D.F.
- 2) Charles O.(2010)*Insuficiencia Venosa crónica y calidad de vida. Revista Cubana Angiología y Cirugía Vascular, (vol.11(1);pp. 27-33)*
- 3) *Encuesta Nacional de Enfermedades Crónicas (ENEC) 1993*
- 4) VEGA L. (2011)"Epidemiología de las Enfermedades Cardiovasculares" Secretaría de Salud.
- 5) Estadísticas de Mortalidad.(2010) *Consulta Interactiva de Datos. México, INEGI.*
- 6) Wittwer ct. (2006) *Proceedings of the Australasian Association of Clinical Biochemists. 44th Annual Scientific Conference. ClinBiochem Rev (vol. 4, pp.11-45).*
- 7) NEWBY, L., Alpert J., Ohman. E.M., Thygesen. K. & Califf. R.M. (2002) *Changing the diagnosis of acute myocardial infarction: implications for practice and clinical investigations. Am Heart J.(pp.957-980)*
- 8) LUEPKER RV, Apple FS, Christenson RH, Crow RS, Fortmann SP, Goff D, et al. (2003)*Case definitions for acute coronary heart disease in epidemiology and clinical research studies. Circulation. (pp. 2543-2549).*
- 9) KENNON, S., Price, C., Mills, P.G., MacCallum, P.K., Cooper, J., Hooper, J., (2003)*Cumulative risk assessment in unstable angina: clinical, electrocardiographic, autonomic, and biochemical markers. Heart. (vol.1, pp. 36-44)*
- 10) HAMMERMEISTER, K., DeRouen, T., Dodge, H.T. (1979) *World Health Organization. Report of the Joint International Society and Federation of Cardiology/World Health Organization Task Force on Standardization of Clinical Nomenclature. Nomenclature and criteria for diagnosis of ischemic heart disease. Circulation(pp. 607-609)*
- 11) FRENCH, J.(2004)*Clinical implications of the new definition of myocardial infarction. Heart; (vol 1, pp. 99-106)*
- 12) APPLE FS. (2002) *European Society of Cardiology and American College of Cardiology guidelines for redefinition of myocardial infarction: how to use existing assays clinically and for clinical trials (pp. 981-986)*
- 13) CHRISTENSON, R. (2007) *National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine Practice Guidelines for Utilization of Biochemical Markers in Acute Coronary Syndromes and Heart Failure. Rev. ClinChem; (vol.53 pp. 545-546)*
- 14) WU, A.H. (2002) *Guidelines and recommendations in laboratory medicine. Rev Clin Chem.; (vol. 48, pp. 1135-1136)*
- 15) GELUK, C.A.(2007) *Clinical characteristics, cardiac events and coronary angiographic findings in the prospective PREVEND cohort: an observational study" Rev Neth Heart J; (vol.15 pp. 133-141)*

- 16) WILLIAMS, S.B. (2004) *Cardiac Markers. Tex Heart Inst J*; (vol. 31, p. 103)
- 17) TURER AT, Mahaffey KW, Gallup D, Weaver WD, Christenson RH, Cada NR, (2007) *Enzyme estimates of infarct size correlate with functional and clinical outcomes in the setting of ST-segment elevation myocardial infarction. Curr Control Trials Cardiovasc Med*; (vol. 6, p.11)
- 18) KAPLAN, L.A., Pesce, A.J. & Kazmierczak, S. (2002) *Química Clínica, teoría, Análisis y Correlación (4a Edición)*. New York:Edit. Mosby; (pp.750-821)
- 19) JAFFE AS, Babuin L and Apple FS. (2006) *Biomarcadores en disección de aorta coronaria*, New York: J Am CollCardiol.(pp.1-11)
- 20) AGUILAR J. (2008) *Infarto Agudo de Miocardio*. Revista Paceaña Fam; (pp.102-114)
- 21) MORROW DA, Cannon CP, Jesse JL.(2007) *Clinical characteristics and utilization of biochemical markers in acute coronary syndromes*. Circulation National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine Practice Guideline (pp.356-75)
- 22) BASSAND, J.P., Hamm, C.W., Ardissino, D.(2006) "Task Force for Diagnosis and Treatment of Non-ST-Segment Elevation Acute Coronary Syndromes" European Society of Cardiology.
- 23) LAWRENCE M, T. (2003) *Diagnóstico Clínico y Tratamiento (38 Edición)*, Santafé Bogotá:Editorial El Manual Moderno (pp. 238 - 245)
- 24) CANALIAS, F. (1996) *Isoenzimas y formas múltiples de las enzimas en bioquímica clínica*.Barcelona: Edit. Sociedad española de bioquímica clínica y patología molecular. (pp.33-42)
- 25) NEUMIER, D. (1981)*Tissue specific distribution of Creatine kinase isoenzymes*Berlin: Edit. Springer-Verlag. (pp. 85-90)
- 26) WU, A., Wang,X.M, Gornet, T.G. & Ordoñez J. (1992) *Creatine kinase isoforms in patients with skeletal muscle injury: ramifications for early detection of acute myocardial infarction*. Rev. Clin Chem (pp.2396-2400)
- 27) ROLSTAD, O.J., Strømme, J.H & Mangschau, A. (2001) *New cardiac markers--clinical benefits in early diagnosis of acute heart disease*. Rev. Norwegian (vol.121, pp. 415-420)
- 28) CHANDRA, M., Tschirgi, M.L, Ford, S.J., Slinker B.K. & Campbell, K.B. (2007) *Interaction between myosin heavy chain and troponin isoforms modulate cardiac myofiber contractile dynamics*. Rev Am J PhysiolRegulIntegr Comp Physiol (Vol. 293 pp. 1595-1607)
- 29) MURAKAMI, K., Yumoto, F., Ohki, S.Y., Yasunaga, T., Tanokura, M. & Wakabayashi, T. (2007) *Structural basis for calciumregulated relaxation of striated muscles at interaction sites of troponin with actin and tropomyosin*. Adv Exp Med Biol (vol. 592: 71-86)
- 30) COULTON A.(2008) *Role of the head-to-tail overlap region in smooth and skeletal muscle beta-tropomyosin*. Biochemistry. (vol.47, pp. 388-397)
- 31) SHARMA,S., Jackson P.G. & Makan, J. (2004) *TroponinaCardiaca*. Rev. J ClinPathol (vol. 57, pp.1025–1026)

- 32) WU, A., Feng, Y.J, Moore, R., Apple, F.S., McPherson, P.H., Buechler, K.F. (1998) *Characterization of cardiac troponin subunit release into serum following acute myocardial infarction, and comparison of assays for troponin T and I. American Association for Clinical Chemistry Subcommittee on cTnl Standardization. Rev. Clin Chem; (vol.44, pp.1198–1208)*
- 33) BABUIN, L. & Jaffe, A.S., (2005) *Troponin: the biomarker of choice for the detection of cardiac njur .Rev. CMAJ (vol. 173, pp. 1191–1202)*
- 34) WONG, G.C., Morrow, D.A., Murphy, S., Kraimer, N., Pai, R., James, D. (2002) *Elevations in troponin T and I are associated with abnormal tissue level perfusion: a TACTICS-TIMI 18 substudy. Treat Angina with Aggrastat and Determine Cost of Therapy with an Invasive or Conservative Strategy-Thrombolysis in Myocardial Infarction. Rev. Circulation (vol. 106 pp. 202-207)*
- 35) JAFFE, A.S. & Katus, H.A. (2004) *Acute coronary syndrome biomarkers: the need for more adequate reporting. Rev. Circulation (vol. 110, pp.104-106)*
- 36) MORROW, D.A. (2003) *Future of biomarkers in acute coronary syndromes: moving toward a multimarker strategy. Rev. Circulation; (vol.108, pp. 250-252)*
- 37) . (12 mayo 2011) *Propedéutica clínica y semiología médic.* Tomo 1. Cap 10. www.sid.cu/galerias/pdf/sitios/pdgaunabo/cap10.pdf. Consultado
- 38) OROZCO, C.N.(2010) *Efecto del Compuesto LQM319 y Captopril en la contracción muscular producida por ANGI y ANG II en presencia de Ang 1-7 en aorta de rata hipertensa espontanea.* Tesis licenciatura QFB.FESC. UNAM, Estado de México. (pp.100-103)
- 39) CASTILLO, G.P.(2008) *Evaluación del efecto de 6 compuestos morfolinicos (LQM308, LQM309, LQM310, LQM312, LQM313, LQM314) y 6 compuestos tiomorfolinicos (LQM318, LQM319, LQM320, LQM321, LQM324, LQM332) sobre la contracción de la aurícula derecha de la rata Wistar macho joven.* Tesis licenciatura QFB. FESC, UNAM, Estado de México
- 40) FLORES M.J. (2006) *Efecto del LQM-301, LQM-304, LQM-308, LQM-310, LQM-318, LQM-319, LQM-320, y LQM-323 sobre la frecuencia cardíaca y el intervalo P-R en rata anestesiada.* Tesis licenciatura QFB. FESC, UNAM, Estado de México (pp.50-59)
- 41) GUTIERREZ R.I. (2008) *Determinación del efecto de los compuestos tiomorfolinicos (LQM318, LQM319, LQM320, LQM322) y de compuestos morfolinicos LQM301 en aorta torácica y abdominal de rata Wistar normotensa.* FESC UNAM, Tesis licenciatura QFB, Estado de México (pp. 55-57)
- 42) AVENDAÑO, L.C. (2001) *Introducción a la Química Farmacéutica* (2ª Edición) Madrid España: McGrawhill Interamericana (pp. 25- 27)
- 43) GALBIS, P. (2004) *Panorama Actual de la Química Farmacéutica* (2ª Edición) España: Publicaciones de la Universidad de Sevilla. (pp.15,16)

-
- 44) MAGOS, G.A. (2009) *Las fases del Desarrollo de Nuevos Medicamentos*. Departamentos de Farmacología. Facultad de Medicina UNAM. Revista Facultad de Medicina UNAM (Vol. 52 No.6)
 - 45) GARCÍA, B.D., TorunchaChuckram, A. (1997) *Los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina*. Rev. Cubana de Cardiología y Cirugía Cardiovascular. (vol.11, pp. 29-46)
 - 46) MARCADORES CARDIACOS. (consultado el 26 Julio 2011) www.portalesmedicos.com/publicaciones/articulos/898/1/marcadores-cardiacos-acerca-de-la-redefinición-del-Infarto-agudo-de-Miocardio
 - 47) SILVERTON, D. (2009) *Fisiología Humana, un enfoque integrado* (4ta edición) Buenos Aires Argentina: Editorial Médica Panamericana (pp. 653-655)

Anexo I

Para poder determinar si los resultados de cada uno de los biomarcadores afectaban significativamente en los resultados o en su efecto, que los compuestos no ejercieran efecto sobre los mismos, se realizaron dos métodos estadísticos, Prueba *t-student* y Análisis de Varianza simple, donde:

Se plantea la siguiente hipótesis:

H₀: valor de las medias de los tratamientos es igual a la media

H_a: al menos un par de las medias de los tratamientos son diferentes

Se realizó un análisis de Varianza de dos factores con una sola muestra por grupo.

Tales hipótesis se comprobaron con los valores de F para una n=5 y con una $\alpha = 0.05$ de significancia, considerando que:

Si $F_{exp} < F_{tab}$ = no se rechaza H_0

Si $F_{exp} > F_{tab}$ = se rechaza H_0

Este análisis se realizó con ayuda del programa analítico STATGRAPHICS; separando los grupos primeramente por biomarcador cardiaco y dentro de este de acuerdo a las toma de muestra en 24 y 48 horas.

ANOVA Simple – CK-MB por 24 horas TRATAMIENTO

Este procedimiento ejecuta un análisis de varianza de un factor para CK-MB. Construye varias pruebas y gráficas para comparar los valores medios de CK-MB para los 4 diferentes niveles de TRATAMIENTO. La prueba-F en la tabla ANOVA determinará si hay diferencias significativas entre las medias.

Resumen Estadístico para CK-MB

B. TRATAMIENTO	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Mínimo
Captopril	5	101.0	31.4006	31.0897%	70.0
Control CO	5	110.8	37.4259	33.7779%	64.0
Control SO	5	84.8	27.8244	32.8119%	56.0
LQM319	5	129.2	54.733	42.363%	75.0
Total	20	106.45	39.6039	37.2043%	56.0

	Coefficiente de Variación	Mínimo	Máximo	Rango
B. Testigo 24h de oclusión	33.7779%	64.0	164.0	100.0
B. Tratado Captopril 24h de oclusión	31.0897%	70.0	135.0	65.0
B. Tratado LQM 319 24h de oclusión	42.363%	75.0	208.0	133.0
Control sin oclusión	32.8119%	56.0	125.0	69.0
Total	37.2043%	56.0	208.0	152.0

B. TRATAMIENTO	Máximo	Rango	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
Captopril	135.0	65.0	0.181698	-1.36784
Control CO	164.0	100.0	0.359773	0.111632
Control SO	125.0	69.0	0.701711	-0.367359
LQM319	208.0	133.0	0.507715	-0.269206
Total	208.0	152.0	1.64324	0.527368

Esta tabla muestra diferentes estadísticos de CK-MB para cada uno de los 4 niveles de TRATAMIENTO.

Tabla ANOVA para B. CK-MB por B. TRATAMIENTO

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	5174.55	3	1724.85	1.12	0.3701
Intra grupos	24626.4	16	1539.15		
Total (Corr.)	29800.9	19			

La tabla ANOVA descompone la varianza de CK-MB en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro de los grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 1.12065, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro de los grupos. Puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual

que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de CK-MB entre un nivel de TRATAMIENTO y otro, con un nivel del 95.0% de confianza.

Pruebas de Múltiple Rangos para CK-MB por TRATAMIENTO

Método: 95.0 porcentaje LSD

B. TRATAMIENTO	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Control SO	5	84.8	X
Captopril	5	101.0	X
Control CO	5	110.8	X
LQM319	5	129.2	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Captopril - Control CO		-9.8	52.6003
Captopril - Control SO		16.2	52.6003
Captopril - LQM319		-28.2	52.6003
Control CO - Control SO		26.0	52.6003
Control CO - LQM319		-18.4	52.6003
Control SO - LQM319		-44.4	52.6003

* indica una diferencia significativa.

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. **No hay diferencias estadísticamente significativas entre cualquier par de medias, con un nivel del 95.0% de confianza.**

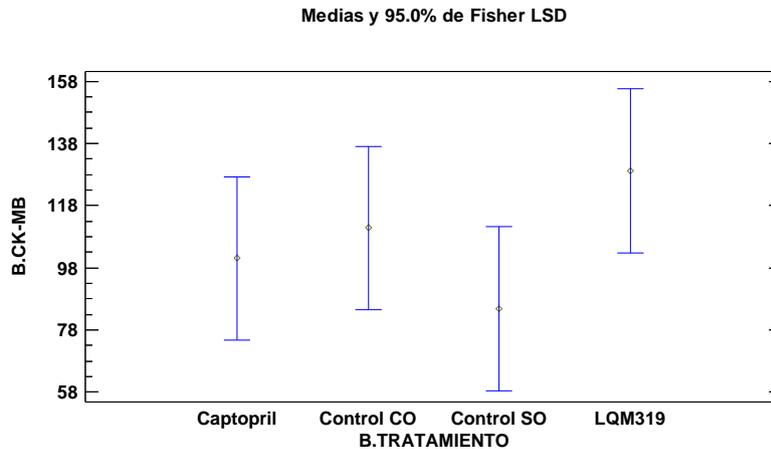
Verificación de Varianza

	Prueba	Valor-P
Levene's	0.651473	0.593505

Comparación	Sigma1	Sigma2	F-Ratio	P-Valor
Captopril / Control CO	31.4006	37.4259	0.703934	0.7420
Captopril / Control SO	31.4006	27.8244	1.27357	0.8204
Captopril / LQM319	31.4006	54.733	0.329138	0.3072
Control CO / Control SO	37.4259	27.8244	1.80922	0.5799
Control CO / LQM319	37.4259	54.733	0.46757	0.4797
Control SO / LQM319	27.8244	54.733	0.258437	0.2184

El estadístico mostrado en esta tabla evalúa la hipótesis de que la desviación estándar de CK-MB dentro de cada uno de los 4 niveles de TRATAMIENTO es la misma. De particular interés es el valor-P. Puesto que el valor-P es mayor o igual que 0.05, **no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar, con un nivel del 95.0% de confianza.**

La tabla también muestra una comparación de las desviaciones típicas para cada par de muestras. P-valores por debajo de 0.05, de los cuales hay 0, indican una diferencia estadísticamente significativa entre las dos sigmas al 5% de nivel de significación.



ANOVA Simple - CK-MB por 48 horas.Tratamiento

Este procedimiento ejecuta un análisis de varianza de un factor para 48 horas.CK-MB. Construye varias pruebas y gráficas para comparar los valores medios de CK-MB para los 4 diferentes niveles de 48 horas de Tratamiento.

Resumen Estadístico para CK-MB

48 horas.Tratamiento	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coficiente de Variación	Mínimo
Captopril	5	52.2	48.1892	92.3165%	0

Control CO	5	37.6	17.855	47.4866%	17.0
Control SO	5	84.8	27.8244	32.8119%	56.0
LQM319	5	38.4	15.7734	41.0766%	26.0
Total	20	53.25	34.0014	63.8523%	0

48 horas.Tratamiento	Máximo	Rango	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
Captopril	96.0	96.0	-0.466097	-1.46302
Control CO	66.0	49.0	0.927262	1.02206
Control SO	125.0	69.0	0.701711	-0.367359
LQM319	66.0	40.0	1.81103	1.93721
Total	125.0	125.0	0.587505	-0.446534

Esta tabla muestra diferentes estadísticos de CK-MB para cada uno de los 4 niveles de 48 horas de Tratamiento.

Tabla ANOVA para CK-MB por 48 horas de Tratamiento

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	7309.75	3	2436.58	2.66	0.0834
Intra grupos	14656.0	16	916.0		
Total (Corr.)	21965.8	19			

La tabla ANOVA descompone la varianza de CK-MB en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro de los grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 2.66003, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro de los grupos. Puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0.05, **no existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de CK-MB entre un nivel de 48 horas de Tratamiento y otro, con un nivel del 95.0% de confianza.**

Pruebas de Múltiple Rangos para 48 horas.CK-MB por 48 horas.Tratamiento

Método: 95.0 porcentaje LSD

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Control CO	5	37.6	X
LQM319	5	38.4	X
Captopril	5	52.2	XX
Control SO	5	84.8	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Captopril - Control CO		14.6	40.5784
Captopril - Control SO		-32.6	40.5784
Captopril - LQM319		13.8	40.5784
Control CO - Control SO	*	-47.2	40.5784
Control CO - LQM319		-0.8	40.5784
Control SO - LQM319	*	46.4	40.5784

* indica una diferencia significativa.

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 2 pares indica que estos pares muestran **si hay diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza.**

Verificación de Varianza

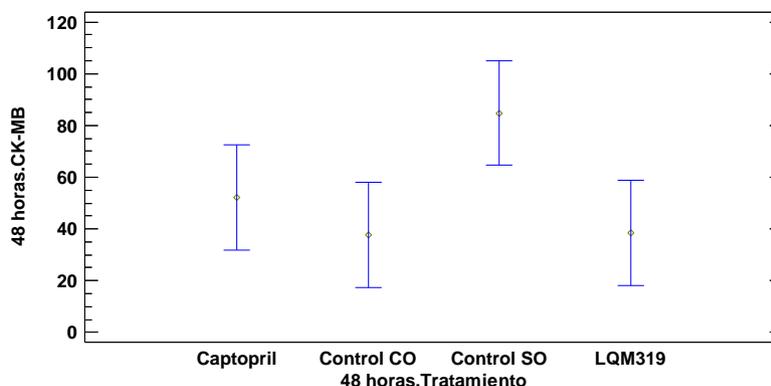
	Prueba	Valor-P
Levene's	1.58518	0.232035

Comparación	Sigma1	Sigma2	F-Ratio	P-Valor
Captopril / Control CO	48.1892	17.855	7.28419	0.0804
Captopril / Control SO	48.1892	27.8244	2.99948	0.3126
Captopril / LQM319	48.1892	15.7734	9.3336	0.0526
Control CO / Control SO	17.855	27.8244	0.41178	0.4112
Control CO / LQM319	17.855	15.7734	1.28135	0.8159
Control SO / LQM319	27.8244	15.7734	3.11174	0.2974

El estadístico mostrado en esta tabla evalúa la hipótesis de que la desviación estándar de CK-MB dentro de cada uno de los 4 niveles de 48 horas de Tratamiento es la misma. De particular interés es el valor-P. Puesto que el valor-P es mayor o igual que 0.05, **no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar, con un nivel del 95.0% de confianza.**

La tabla también muestra una comparación de las desviaciones típicas para cada par de muestras. P-valores por debajo de 0.05, de los cuales hay 0, indican una diferencia estadísticamente significativa entre las dos sigmas al 5% de nivel de significación.

Medias y 95.0% de Fisher LSD



ANOVA Simple - Troponina I por 24 horas de Tratamiento

Este procedimiento ejecuta un análisis de varianza de un factor para Troponina I. Construye varias pruebas y gráficas para comparar los valores medios de Troponina I para los 4 diferentes niveles de 24 horas de tratamiento.

Resumen Estadístico para Troponina I

24 horas.tratamiento	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Mínimo
Captopril	5	11.2	13.1034	116.995%	1.0
Control CO	5	58.0	31.1448	53.698%	10.0
Control SO	5	0	0	%	0
LQM319	5	8.2	12.8919	157.218%	0
Total	20	19.35	28.5865	147.734%	0

24 horas.tratamiento	Máximo	Rango	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
Captopril	30.0	29.0	0.834294	-0.682222
Control CO	90.0	80.0	-0.85212	0.34782
Control SO	0	0		
LQM319	30.0	30.0	1.57818	1.25603
Total	90.0	90.0	2.74146	1.06178

Esta tabla muestra diferentes estadísticos de Troponina I para cada uno de los 4 niveles de 24 horas de tratamiento.

Tabla ANOVA para 24 horas.Troponina I por 24 horas.tratamiento

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	10295.0	3	3431.65	10.50	0.0005
Intra grupos	5231.6	16	326.975		
Total (Corr.)	15526.6	19			

La tabla ANOVA descompone la varianza de Troponina I en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro de los grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 10.4951, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro de los grupos. Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0.05, **existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de Troponina I entre un nivel de 24 horas de tratamiento y otro, con un nivel del 95.0% de confianza.**

Pruebas de Múltiple Rangos para 24 horas.Troponina I por 24 horas.tratamiento

Método: 95.0 porcentaje LSD

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Control SO	5	0	X
LQM319	5	8.2	X
Captopril	5	11.2	X
Control CO	5	58.0	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Captopril - Control CO	*	-46.8	24.244
Captopril - Control SO		11.2	24.244
Captopril - LQM319		3.0	24.244
Control CO - Control SO	*	58.0	24.244
Control CO - LQM319	*	49.8	24.244
Control SO - LQM319		-8.2	24.244

* indica una diferencia significativa.

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 3 pares indica que estos pares muestran **que si hay diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza.**

Verificación de Varianza

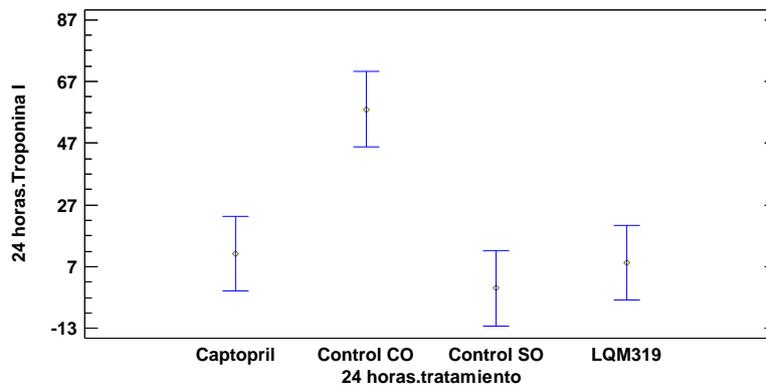
	<i>Prueba</i>	<i>Valor-P</i>
Levene's	2.48407	0.0979655

<i>Comparación</i>	<i>Sigma1</i>	<i>Sigma2</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Valor</i>
Captopril / Control CO	13.1034	31.1448	0.17701	0.1221
Captopril / Control SO	13.1034	0	1.#INF	0.0000
Captopril / LQM319	13.1034	12.8919	1.03309	0.9756
Control CO / Control SO	31.1448	0	1.#INF	0.0000
Control CO / LQM319	31.1448	12.8919	5.83634	0.1159
Control SO / LQM319	0	12.8919	0	0.0000

El estadístico mostrado en esta tabla evalúa la hipótesis de que la desviación estándar de Troponina I dentro de cada uno de los 4 niveles de 24 horas de tratamiento es la misma. Puesto que el valor-P es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar, con un nivel del 95.0% de confianza.

La tabla también muestra una comparación de las desviaciones típicas para cada par de muestras. P-valores por debajo de 0.05, de los cuales hay 3, indican una diferencia estadísticamente significativa entre las dos sigmas al 5% de nivel de significación.

Medias y 95.0% de Fisher LSD



ANOVA Simple - 48 horas.Troponina I por 48 horas.tratamiento

Este procedimiento ejecuta un análisis de varianza de un factor para Troponina I. Construye varias pruebas y gráficas para comparar los valores medios de Troponina I para los 4 diferentes niveles de 48 horas de tratamiento.

Resumen Estadístico para Troponina I

<i>48 horas.tratamiento</i>	<i>Recuento</i>	<i>Promedio</i>	<i>Desviación Estándar</i>	<i>Coefficiente de Variación</i>	<i>Mínimo</i>
Captopril	5	12.0	17.8885	149.071%	0
Control CO	5	42.0	28.6356	68.1801%	0
Control SO	5	0	0	%	0
LQM319	5	1.0	2.23607	223.607%	0
Total	20	13.75	23.3326	169.691%	0

<i>48 horas.tratamiento</i>	<i>Máximo</i>	<i>Rango</i>	<i>Sesgo Estandarizado</i>	<i>Curtosis Estandarizada</i>
Captopril	40.0	40.0	1.1482	0.142636
Control CO	80.0	80.0	-0.303238	0.761631
Control SO	0	0		
LQM319	5.0	5.0	2.04124	2.28218
Total	80.0	80.0	3.01293	1.86159

Esta tabla muestra diferentes estadísticos de Troponina I para cada uno de los 4 niveles de 48 horas de tratamiento.

Tabla ANOVA para Troponina I por 48 horas de tratamiento

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	5763.75	3	1921.25	6.71	0.0038
Intra grupos	4580.0	16	286.25		
Total (Corr.)	10343.8	19			

La tabla ANOVA descompone la varianza de Troponina I en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro de los grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 6.71179, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0.05, **existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de Troponina I entre un nivel de 48 horas de tratamiento y otro, con un nivel del 95.0% de confianza.**

Pruebas de Múltiple Rangos para Troponina I por 48 horas de tratamiento

Método: 95.0 porcentaje LSD

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Control SO	5	0	X
LQM319	5	1.0	X
Captopril	5	12.0	X
Control CO	5	42.0	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Captopril - Control CO	*	-30.0	22.684
Captopril - Control SO		12.0	22.684
Captopril - LQM319		11.0	22.684
Control CO - Control SO	*	42.0	22.684
Control CO - LQM319	*	41.0	22.684
Control SO - LQM319		-1.0	22.684

* indica una diferencia significativa.

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 3 pares indica que estos pares muestran **que si hay diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza.**

Verificación de Varianza

	Prueba	Valor-P
Levene's	2.04698	0.147803

Comparación	Sigma1	Sigma2	F-Ratio	P-Valor
Captopril / Control CO	17.8885	28.6356	0.390244	0.3843
Captopril / Control SO	17.8885	0	1.#INF	0.0000
Captopril / LQM319	17.8885	2.23607	64.0	0.0014
Control CO / Control SO	28.6356	0	1.#INF	0.0000
Control CO / LQM319	28.6356	2.23607	164.0	0.0002
Control SO / LQM319	0	2.23607	0	0.0000

El estadístico mostrado en esta tabla evalúa la hipótesis de que la desviación estándar de Troponina I dentro de cada uno de los 4 niveles de 48 horas de tratamiento es la misma.

La tabla también muestra una comparación de las desviaciones típicas para cada par de muestras. P-valores por debajo de 0.05, de los cuales hay 5, indican una diferencia estadísticamente significativa entre las dos sigmas al 5% de nivel de significación.

