

**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN



**EFECTO DE LA EPICATEQUINA SOBRE
EL PROCESO DE ISQUEMIA-REPERFUSIÓN**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIOLÓGO

PRESENTA:

CARLOS ANDRÉS CRUZ GÓMEZ

ASESOR: M. en C. LIDIA RANGEL TRUJANO

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

**M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE**

**ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales
de la FES Cuautitlán.**

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Efecto de la Epicatequina sobre el proceso de Isquemia-Reperusión.

Que presenta el pasante: **Carlos Andrés Cruz Gómez**
Con número de cuenta: 097267847 para obtener el Título de la carrera: Química Farmacéutico Biológica

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 30 de Noviembre de 2016.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dra. Luisa Martínez Aguilar	
VOCAL	M. en C. Lidia Rangel Trujano	
SECRETARIO	Q.F.B. Amparo Ramos Aguilar	
1er. SUPLENTE	Q.F.B. Daniel Raygoza Trejo	
2do. SUPLENTE	Q.F.B. Elisa Pedraza Vázquez	

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

LMCF/cga

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por haberme dado la oportunidad, los conocimientos y la sabiduría, para crecer y desarrollarme personal y profesionalmente.

Quiero dar las gracias a la maestra Guadalupe Koizumi por su apoyo, consejos y la confianza que me brindo durante mi formación académica en la FESC.

Al Dr. Guillermo Ceballos y a la Dra. Gabriela Sereno de la ESM del IPN, por proporcionarme los medios y las herramientas necesarias para realizar esta investigación.

Agradecerle a la M. en C. Lidia Rangel Trujano por todo el esfuerzo, tiempo, dedicación y paciencia que me brindo, para la culminación de este trabajo durante esta etapa tan importante de mi vida.

A mis sinodales la Dra. Luisa Martínez, Q.F.B Amparo Ramos, Q.F.B. Daniel Raygoza y a la Q.F.B. Elisa Pedraza, por su apoyo, comprensión y observaciones.

A mis amigos de la generación 28, Mónica y Carlos S. por ser parte de esta aventura.

A mis grandes amigos de la generación 29, Jessica, Antonio y Omar, por estar siempre conmigo en las buenas y en las malas.

DEDICATORIAS

A Mis Padres, Carlos Cruz Téllez y Rosa María Gómez García, por darme la vida, el amor incondicional, el apoyo y el legado más importante que es la educación.

A Mis Hermanos, Fernando Cruz Gómez y Esteban Cruz Gómez, por estar conmigo en los momentos más difíciles y por haberme brindado su comprensión cuando más la necesite.

“POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU”

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS	4
ÍNDICE DE TABLAS	5
ÍNDICE DE GRAFICAS	5
ABREVIATURAS	5
1. RESUMEN	8
2. INTRODUCCIÓN	10
2.1. Anatomía y Fisiología Cardíaca	10
2.2. Sistema Circulatorio	11
2.3. El Latido Cardíaco	11
2.4. Sistema de Conducción	13
2.5. Circulación Coronaria	16
2.6. Enfermedades Cardiovasculares (ECV)	16
2.6.1. Cardiopatía	17
2.6.2. Cardiopatía isquémica	17
2.7. Infarto Agudo al Miocardio	18
2.7.1. Oclusión Coronaria	18
2.7.2. Trombosis	18
2.7.3. Embolo	19
2.7.4. Arteriosclerosis	20
2.7.5. Aterosclerosis	20
2.7.6. Hemorragia Subíntima	21
2.8. Desarrollo del Infarto Agudo del Miocardio (IAM)	22
2.8.1. Papel de los Colaterales	24
2.9. Consecuencias de la Obstrucción Coronaria	25
2.9.1. Bradicardia	25
2.9.2. Taquicardia	25

2.10. Desordenes Metabólicos	27
2.10.1. ATP	27
2.10.2. Sodio y Potasio	28
2.10.3. Calcio	28
2.11. Reperfusión	30
2.12. Modelos experimentales de IAM	32
2.12.1 Miocardio Aturdido (STUNNED)	32
2.12.2. Aturdimiento agudo	33
2.12.3. Aturdimiento crónico	34
2.13. Diferencia Entre Miocardio Aturdido e Hibernante	34
2.14. Consecuencias del Proceso de Isquemia-Reperfusión	35
2.15. Mecanismos de Defensa ante el Estrés Oxidativo en una Isquemia-Reperfusión	36
2.16. Clasificación de los Antioxidantes	36
2.16.1. Sistemas de defensa enzimáticos	37
2.16.2. Sistemas de defensa no-enzimáticos	37
2.16.3. Captadores de RL o “scavengers”	37
2.16.4. Quelantes de metales de transición	37
2.16.5. Otra clasificación se establece según su origen	37
2.17. Compuestos Polifenólicos (CPF)	38
2.18. Flavonoide	40
2.19. Clasificación De los Flavonoides	42
2.19.1. Flavonoles	42
2.19.2. Flavonas	43
2.19.3. Flavanonas	43
2.19.4. Isoflavonas	43
2.19.5. Antocianidinas	43
2.19.6. Flavanoles	44
2.20. Alimentos Ricos en Flavonoides	44
2.21. Historia del Chocolate	45

2.22. Árbol del Cacao	46
2.23. Propiedades Físicas y Medicinales de los Flavonoides	47
2.23.1. Propiedades Antioxidantes	48
2.23.2. Propiedades Anticancerosas	48
2.23.3. Propiedades Cardiotónicas	48
2.23.4. Fragilidad Capilar	49
2.23.5. Propiedades Antitrombóticas	49
2.23.6. Disminución del Colesterol	49
2.23.7. Protección del Hígado	49
2.23.8. Protección del Estómago	49
2.23.9. Antiinflamatorias y Analgésicas	49
2.23.10. Antimicrobianas	49
2.24. Epicatequina	50
2.25. Metabolismo de los Polifenoles	51
3. Justificación	54
4. Objetivo General	54
5. Hipótesis	54
6. Metodología	55
6.1. Animales y Procedimientos Quirúrgicos	55
6.2. Diagrama de Flujo	57
7. Resultados	58
8. Discusión	61
9. Conclusiones	65
10. Referencias	66

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Anatomía del Corazón.

Figura 2 Fases del Latido.

Figura 3 Sistema de Conducción Eléctrica en el Corazón.

Figura 4 Composición de la Sangre.

Figura 5 Esquema del Aparato Vascolar del Corazón

Figura 6 Esquema de la Oclusión de una Arteria.

Figura 7 Fisiopatología de la Isquemia-Reperfusión.

Figura 8. Oclusión Coronaria.

Figura 9 Fisiopatología del Daño Celular Inducido por el Calcio Durante la Reperfusión.

Figura 10 Comportamiento del Miocardio en la Isquemia y Reperfusión.

Figura 11 Mecanismo de Producción de ERO en la Isquemia-Reperfusión.

Figura 12 Distribución de los Antioxidantes en la Célula y el Espacio extracelular.

Figura 13 Estructura del Fenol y de un Compuesto Polifenólico.

Figura 14 Esquema de la Ruta Biosintética de los Polifenoles en las Plantas.

Figura 15 Diferencias Estructurales de los Compuestos Polifenólicos.

Figura 16 Esquema de las Subfamilias de los Compuestos Polifenólicos.

Figura 17 Estructura Básica de los Flavonoides

Figura 18 Esquema de los Diferentes Subgrupos de los Flavonoides.

Figura 19 Árbol del Cacao.

Figura 20 Fruto del Cacao.

Figura 21 Estructura Base de la Catequina y la Epicatequina

Figura 22 Isómeros de Catequina.

Figura 23 Isómeros de Epicatequina.

Figura 24 Corazones Teñidos.

Figura 25 Formación del Radical Flavínico por la Captura de los Radicales por los Polifenoles

Figura 26 Reacción de Fenton.

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla No.1 Papel del calcio durante el aturdimiento miocárdico.

Tabla No. 2 Diferencias entre el miocardio aturdido e hibernante.

Tabla No. 3 Porcentaje de Área infartada

Tabla No. 4 Porcentaje del Tejido Sano de acuerdo a la concentración de epicatequina.

ÍNDICE DE GRAFICAS

Gráfica No. 1: Área Infartada del Corazón de las Ratas Control y con Epicatequina.

Gráfica No. 2: Área del Tejido Sano del Corazón de las Ratas Control y con Epicatequina

Gráfica No. 3: Curva Concentración- Respuesta.

ABREVIATURAS

ADP Adenosín difosfato

AMP Adenosín monofosfato

ATP Adenosín trifosfato

AV Auriculo-ventricular.

Ca Ión Calcio

CAT Catalasa

CoA Coenzima A

COX Ciclooxygenasa

CPF Compuestos polifenólicos

DMSO Dimetilsulfóxido

ECV Enfermedades Cardiovasculares

ERO Especies reactivas del oxígeno

H⁺ Ión Hidrógeno

H₂O Agua

H₂O₂ Peróxido de hidrógeno

HCIO Ácido cloroso

IAM Infarto agudo al miocardio

IAMEST Infarto agudo de miocardio con elevación del segmento ST

IAMSEST Infarto agudo de miocardio sin elevación del segmento ST

K⁺ Ión Potasio

LDL Lipoproteína de baja densidad

MPO Mieloperoxidasa

Na⁺ Ión Sodio

NADPH Nicotinamida-adenina dinucleótido-fosfato

OH⁻ Ión Hidroxilo

PBS Buffer de fosfatos

pH Potencial de hidrógeno

REDOX Óxido-reducción

RL Radical Libre

SA Sinoauricular

SOD Superóxido dismutasa

ST Periodo de inactividad entre la despolarización y el inicio de la repolarización ventricular.

XO Xantina Oxidasa

1. RESUMEN

El corazón es el órgano que se encarga de difundir el oxígeno y los nutrientes vitales que precisa el resto del organismo para desarrollar sus funciones. En la actualidad se sabe que existen trastornos cardiovasculares denominados cardiopatías, que pueden afectar negativamente la capacidad funcional del corazón. Se denomina cardiopatía a cualquier trastorno que afecte la capacidad del corazón para funcionar normalmente. La causa más común de la cardiopatía es un estrechamiento o un bloqueo en las arterias coronarias que suministran la sangre al miocardio (arteriopatía coronaria). Esta situación dificulta la llegada de sangre a las células del corazón, ocasionando un déficit de sustratos necesarios para la producción de ATP, la disminución del aporte de oxígeno, y la acumulación anormal de productos de desecho del metabolismo celular. Este estrés denominado isquemia, puede ser suficientemente intenso como para causar la muerte celular, ya que sin estos componentes que son vitales para el funcionamiento apropiado de las células, los tejidos y órganos comienzan a morir, provocando finalmente el infarto agudo al miocardio.

El objetivo principal de la reperfusión consiste en restablecer el flujo sanguíneo y proveer el oxígeno y sustratos metabólicos necesarios para la recuperación y supervivencia del tejido hipóxico. Sin embargo, la reperfusión también posee la capacidad de generar una lesión adicional o extra al miocardio, conocida como lesión por Reperfusión. Este daño condicionado por la reperfusión está relacionado, entre otras causas, con el incremento brusco del oxígeno, la producción y liberación de radicales, con la disfunción mitocondrial, la infiltración de diversas células inflamatorias, así como con diversos productos resultantes de las alteraciones en el metabolismo de la glucosa y de los ácidos grasos. En el organismo, existe un balance dinámico entre la cantidad de especies reactivas generadas, con la cantidad de especies reactivas que son degradadas.

Sin embargo, existen situaciones que pueden generar un desequilibrio progresivo y continuo entre oxidantes y antioxidantes, ocasionado por el aumento de los oxidantes o por la disminución de los antioxidantes. Esta situación denominada estrés oxidativo, provoca un severo desequilibrio REDOX en las células, lo que puede ocasionar lesiones en los tejidos, que a su vez pueden provocar una serie de enfermedades y/o trastornos degenerativos como la Arteriosclerosis, u otros padecimientos cardiovasculares. Desde la antigüedad se han utilizado plantas como una fuente tradicional de remedios contra distintas enfermedades.

Hoy en día se sabe que muchos extractos y productos naturales de origen vegetal, contienen una gran cantidad de principios activos que son capaces de interactuar positivamente con el organismo y sus distintos sistemas. Varios estudios han demostrado que el consumo de productos naturales ricos en flavonoides, pueden disminuir el riesgo de desarrollar enfermedades y/o trastornos relacionados con el estrés oxidativo. Un estudio realizado en la población de indígenas kuna, sugirió que existe una fuerte evidencia de que la continua ingesta de cacao, puede disminuir significativamente la incidencia de padecer enfermedades cardiovasculares.

Estos resultados, han motivado a muchos investigadores a evaluar las propiedades de los compuestos polifenólicos contenidos en el cacao, aunque el este producto contiene varias sustancias bioactivas, que han sido consideradas como posibles candidatas capaces de producir efectos positivos sobre la salud cardiovascular; recientes investigaciones han llegado a la conclusión de que el flavonoide epicatequina es un mediador clave, que puede influir favorablemente en los sistemas de defensa antioxidante, mejora la supervivencia celular y ayuda a disminuir diversos factores de riesgo asociados a enfermedades cardiovasculares. En el presente trabajo se estudiaron las propiedades cardioprotectoras del monómero (-)-Epicatequina (flavanol del *Theobroma Cacao*).

Los resultados obtenidos en esta investigación mostraron que la administración profiláctica de la 3,4-Dimetilepicatequina redujo el tamaño del infarto de manera dosis dependiente después de un proceso de isquemia-reperfusión regional. Sin embargo, es muy importante aclarar que debido a que los eventos de isquemia e infarto al corazón son regionales y no globales, los modelos utilizados en esta investigación fueron elegidos y desarrollados para evaluar el efecto cardioprotector de la epicatequina, explorar los mecanismos subyacentes del preacondicionamiento en condiciones controladas (animales jóvenes y sanos) para entender el impacto del efecto antioxidante relacionado con dicha cardioprotección.

2. INTRODUCCIÓN

2.1. Anatomía y Fisiología Cardíaca

El corazón de un ser humano pesa entre 200-425 gramos y es un poco más grande que una mano cerrada (Figura 1). Cada día, el corazón late 100.000 veces, bombeando aproximadamente 7.571 litros de sangre. El corazón se encuentra entre los pulmones en el centro del pecho, detrás y levemente a la izquierda del esternón. Una membrana de dos capas, denominada «pericardio» envuelve el corazón como una bolsa. La capa externa del pericardio rodea el nacimiento de los principales vasos sanguíneos del corazón y está unida a la espina dorsal, al diafragma y a otras partes del cuerpo por medio de ligamentos. La capa interna del pericardio está unida al músculo cardíaco. Una capa de líquido separa las dos capas de la membrana, permitiendo que el corazón se mueva al latir a la vez que permanece unido al cuerpo¹.

Anatomía del Corazón

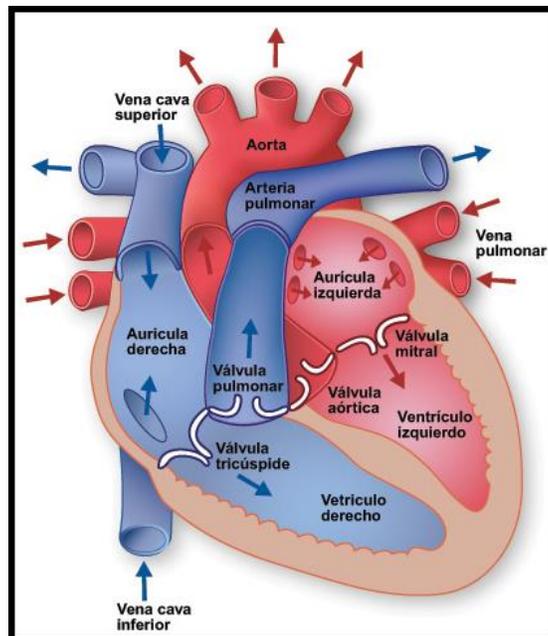


Figura 1. En ella se muestra que el corazón está formado por cuatro cámaras y cuatro válvulas, así como estar rodeado de arterias y venas ¹.

El corazón tiene cuatro cavidades. Las cavidades superiores se denominan «aurícula izquierda» y «aurícula derecha» y las cavidades inferiores se denominan «ventrículo izquierdo» y «ventrículo derecho». Una pared muscular denominada «tabique» separa las aurículas izquierda y derecha y los ventrículos izquierdo y derecho. El ventrículo izquierdo es la cavidad más grande y fuerte del corazón. Las paredes del ventrículo izquierdo tienen un grosor de sólo media pulgada (poco más de un centímetro), pero tienen la fuerza suficiente para impeler la sangre a través de la válvula aórtica hacia el resto del cuerpo¹. Las válvulas que controlan el flujo de la sangre por el corazón son cuatro:

1.-La válvula tricúspide controla el flujo sanguíneo entre la aurícula derecha y el ventrículo derecho.

2.-La válvula pulmonar controla el flujo sanguíneo del ventrículo derecho a las arterias pulmonares, las cuales transportan la sangre a los pulmones para oxigenarla.

3.-La válvula mitral permite que la sangre rica en oxígeno proveniente de los pulmones pase de la aurícula izquierda al ventrículo izquierdo.

4.- La válvula aórtica permite que la sangre rica en oxígeno pase del ventrículo izquierdo a la aorta, la arteria más grande del cuerpo, la cual transporta la sangre al resto del organismo¹.

2.2. Sistema Circulatorio

El corazón y el sistema circulatorio componen el aparato cardiovascular. El corazón actúa como una bomba que impulsa la sangre hacia los órganos, tejidos y células del organismo. La sangre suministra oxígeno y nutrientes a cada célula y recoge el dióxido de carbono y las sustancias de desecho producidas por esas células. La sangre es transportada desde el corazón al resto del cuerpo por medio de una red compleja de arterias, arteriolas y capilares y regresa al corazón por las vénulas y venas. El aparato circulatorio es unidireccional y transporta sangre a todas las partes del cuerpo¹.

2.3. El Latido Cardíaco

Este movimiento de la sangre dentro del cuerpo se denomina «circulación». Las **arterias** transportan sangre rica en oxígeno del corazón y las **venas** transportan sangre pobre en oxígeno al corazón.

En la circulación pulmonar, sin embargo, los papeles se invierten. La arteria pulmonar es la que transporta sangre pobre en oxígeno a los pulmones, mientras que la vena pulmonar se encarga de transportar sangre rica en oxígeno al corazón. Veinte arterias importantes atraviesan los tejidos del organismo donde se ramifican en vasos más pequeños denominados «arteriolas»³. Las arteriolas, a su vez, se ramifican en capilares que son los vasos encargados de suministrar oxígeno y nutrientes a las células. La mayoría de los capilares son más delgados que un pelo. Muchos de ellos son tan delgados que sólo permiten el paso de una célula sanguínea a la vez. Después de suministrar oxígeno y nutrientes y de recoger dióxido de carbono y otras sustancias de desecho, los capilares conducen la sangre a vasos más anchos denominados «vénulas». Las vénulas se unen para formar venas, las cuales transportan la sangre nuevamente al corazón para oxigenarla¹.

Todo lo anterior el sistema cardiovascular lo realiza a través de lo que se denomina ciclo cardíaco, el cual es una acción de bombeo en dos fases que toma aproximadamente un segundo (Figura 2), a medida que se va acumulando sangre en las cavidades superiores (aurícula derecha e izquierda), el marcapasos natural del corazón el nódulo Sinoatrial (SA) envía una señal eléctrica que estimula la contracción de las aurículas, ésta impulsa sangre a través de las válvulas tricúspide y mitral hacia las cavidades inferiores que se encuentran en reposo (los ventrículos derecho e izquierdo). Esta fase de la acción de bombeo (la más larga) se denomina **diástole**.

Fases del Latido

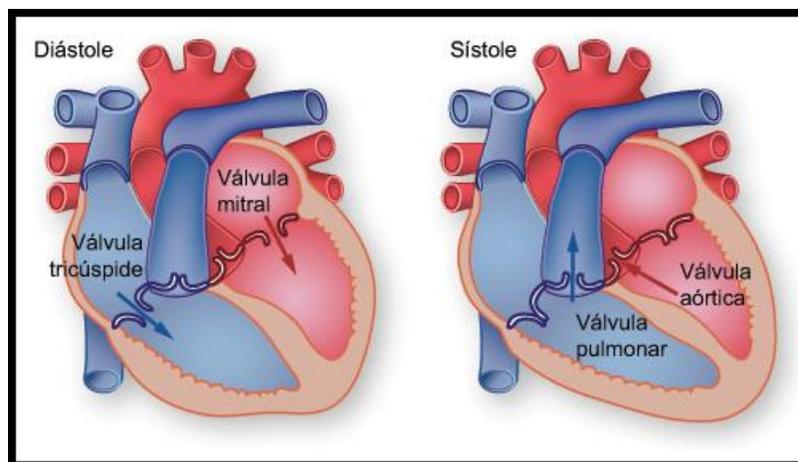


Figura 2. En ella se muestra que el latido cardíaco está formado por una sístole y una diástole ².

La segunda fase de la acción de bombeo comienza cuando los ventrículos están llenos de sangre. Las señales eléctricas generadas por el nódulo SA se propagan por una vía de conducción eléctrica a los ventrículos estimulando su contracción. Esta fase se denomina **sístole**. Al cerrarse firmemente las válvulas tricúspide y mitral para impedir el retorno de sangre, se abren las válvulas pulmonar y aórtica. Al mismo tiempo que el ventrículo derecho impulsa sangre a los pulmones para oxigenarla, fluye sangre rica en oxígeno del ventrículo izquierdo al corazón y a otras partes del cuerpo. Cuando la sangre pasa a la arteria pulmonar y a la aorta, los ventrículos se relajan y las válvulas pulmonar y aórtica se cierran.

Al reducirse la presión en los ventrículos, se abren las válvulas tricúspide y mitral y el ciclo comienza otra vez. Esta serie de contracciones se repite constantemente, aumentando en momentos de esfuerzo y disminuyendo en momentos de reposo. Pero el corazón no actúa en forma independiente. El cerebro detecta las condiciones a nuestro alrededor (el clima, los factores estresantes y el nivel de actividad física) y regula el aparato cardiovascular para poder satisfacer las necesidades del organismo en esas condiciones. El corazón humano es un músculo que puede mantenerse fuerte y funcionar bien durante cien años o más. Si reducimos los factores de riesgo cardiovascular, es muy posible mantener sano el corazón durante más tiempo².

2.4. Sistema de Conducción

El ciclo cardíaco está modulado también por el sistema de conducción del corazón, el cual permite que los impulsos eléctricos generados por el músculo cardíaco (el miocardio) provoque la aparición del latido (contracción) del corazón. Esta señal eléctrica se origina en el nódulo SA «marcapasos natural» (ubicado en la parte superior de la aurícula derecha). Cuando este marcapasos genera un impulso eléctrico, estimula la contracción de las aurículas; a continuación, la señal pasa por el nódulo Auriculoventricular (AV), éste a su vez detiene la señal un breve instante y la envía por las fibras musculares de los ventrículos, estimulando su contracción (Figura 3). Se ha observado que aunque el nódulo SA envía impulsos eléctricos a una velocidad determinada, la frecuencia cardíaca podría variar según las demandas físicas o el nivel de estrés o debido a factores hormonales³.

Sistema de Conducción Eléctrica en el Corazón

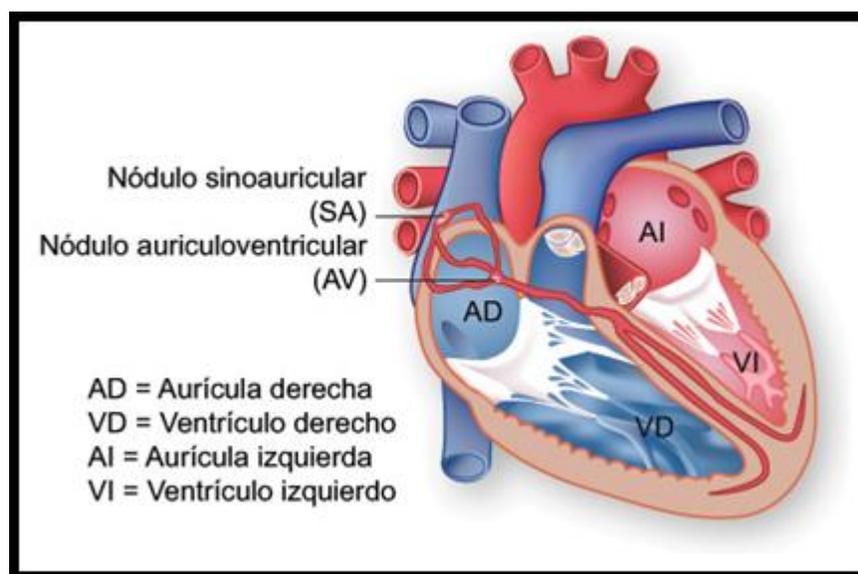


Figura 3. El potencial de acción se origina en el Nodo SA, se propaga hacia el Nodo AV, El nódulo AV detiene la señal un breve instante y la envía por las fibras musculares de los ventrículos, estimulando su contracción ³.

Todo el trabajo realizado por el sistema cardiovascular tiene como objetivo bombear sangre a todos los órganos, tejidos y células del organismo, esta sangre está compuesta principalmente de un líquido amarillento denominado plasma, que contiene un 80 % de agua y un 20 % de otras sustancias como sales, carbohidratos, hormonas, grasas, lípidos y gases. El plasma también contiene proteínas que transportan nutrientes importantes a las células del organismo y fortalecen al sistema inmunitario para que pueda combatir las infecciones.

La sangre es en realidad un tejido y es espesa porque está compuesta de una variedad de células, cada una de las cuales tiene una función diferente, como son, (Figura 4):

Plaquetas: Intervienen en el proceso de coagulación sanguínea. La coagulación detiene el flujo de sangre fuera del cuerpo cuando se rompe una vena o una arteria. Las plaquetas también se denominan trombocitos.

Glóbulos rojos: Son los encargados de transportar oxígeno. El organismo produce alrededor de 2,4 millones de estas células por segundo y cada una vive alrededor de 120 días. Los glóbulos rojos también se denominan eritrocitos.

Glóbulos blancos: Son los que combaten las infecciones. Estas células, que tienen muchas formas y tamaños diferentes, son vitales para el sistema inmunitario. Los glóbulos blancos también se denominan leucocitos. Cuando el organismo combate una infección, aumenta su producción de estas células.

Composición de la Sangre

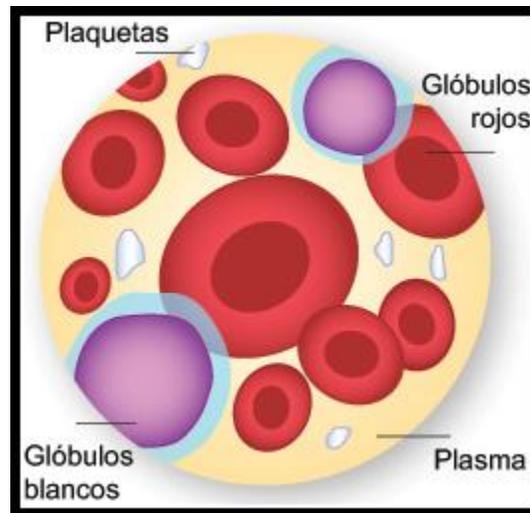


Figura 4. Se muestran las diferentes células sanguíneas ⁴.

En forma general la función de la sangre es transportar oxígeno de los pulmones y nutrientes del aparato digestivo a las células del organismo. También se lleva el dióxido de carbono y todos los productos de desecho que el organismo no necesita.

La sangre además:

- Ayuda a mantener el cuerpo a la temperatura correcta.
- Transporta hormonas a las células del organismo.
- Envía anticuerpos para combatir las infecciones.
- Contiene factores de coagulación para favorecer la coagulación de la sangre y la cicatrización de los tejidos del cuerpo.

La sangre se tiene que mantener limpia (aclaramiento sanguíneo), para lo cual, los riñones la filtran⁴.

2.5. Circulación Coronaria

El músculo cardíaco, como cualquier otro órgano o tejido del cuerpo, necesita sangre rica en oxígeno para sobrevivir. El corazón recibe sangre por medio de su propio aparato vascular (Figura 5). A esto se le denomina «circulación coronaria». La aorta es el principal conducto de suministro de sangre del organismo y se ramifica en dos vasos sanguíneos coronarios principales, denominados «arterias». Estas arterias coronarias se ramifican a su vez en arterias más pequeñas que suministran sangre rica en oxígeno a todo el músculo cardíaco. La arteria coronaria derecha suministra sangre principalmente al lado derecho del corazón. El lado derecho del corazón es más pequeño porque bombea sangre sólo a los pulmones. La arteria coronaria izquierda, que se ramifica en la arteria descendente anterior izquierda y la arteria circunfleja, suministra sangre al lado izquierdo del corazón. El lado izquierdo del corazón es más grande y muscular porque bombea sangre al resto del cuerpo⁵.

Esquema del Aparato Vascular del Corazón

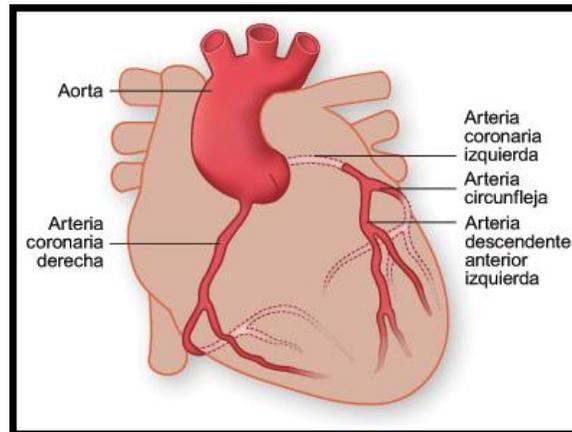


Figura 5. Se observan las diferentes arterias que irrigan al corazón, como es la coronaria ⁵.

2.6. Enfermedades Cardiovasculares (ECV)

Las enfermedades cardiovasculares constituyen un conjunto de entidades que afectan el corazón y los vasos sanguíneos⁶. Son la principal causa de muerte en todo el mundo. Cada año mueren más personas por ECV que por cualquier otra causa⁷, las muertes por éstas afectan por igual a ambos sexos, y más del 80% se producen en países de ingresos bajos y medios⁸.

La mayoría de las ellas, pueden prevenirse actuando sobre los factores de riesgo, como el consumo de tabaco, las dietas malsanas y la obesidad, la inactividad física, la hipertensión arterial, la diabetes o el aumento de los lípidos. Las enfermedades cardiovasculares se clasifican en:

2.6.1. Cardiopatía

Se denomina cardiopatía a cualquier trastorno que afecte la capacidad del corazón para funcionar normalmente. La causa más común de la cardiopatía es un estrechamiento o un bloqueo en las arterias coronarias que suministran la sangre al miocardio (arteriopatía coronaria)⁹. Cualquier interferencia (oclusión) importante con el flujo sanguíneo a través las arteria coronarias puede trastornar el funcionamiento del miocardio y provocar la muerte súbita de un individuo¹⁰. La cardiomiopatía daña la tonicidad muscular del corazón y reduce su capacidad para bombear sangre al resto del organismo¹¹. Algunas de ellas son:

1. Cardiopatía coronaria: Enfermedad de los vasos sanguíneos que irrigan el músculo cardíaco.
2. Enfermedades cerebrovasculares: Enfermedades de los vasos sanguíneos que irrigan el cerebro.
3. Arteriopatías periféricas: Enfermedades de los vasos sanguíneos que irrigan los miembros superiores e inferiores.
4. Cardiopatía reumática: Lesiones del miocardio y de las válvulas cardíacas debidas a la fiebre reumática, una enfermedad causada por bacterias denominadas estreptococos.
5. Cardiopatías congénitas: Son malformaciones del corazón presentes desde el nacimiento.
6. Trombosis venosas profundas y embolias pulmonares: Son coágulos de sangre (trombos) en las venas de las piernas, que pueden desprenderse (émbolos) y alojarse en los vasos del corazón y los pulmones⁷.

2.6.2. Cardiopatía isquémica

Término en medicina que se utiliza para designar de manera general al conjunto de trastornos íntimamente relacionados, en donde hay un desequilibrio entre el suministro de oxígeno y sustratos con la demanda cardíaca. La isquemia es ocasionada por una obstrucción del riego arterial al músculo cardíaco y causa, además de hipoxemia, un déficit de sustratos necesarios para la producción de ATP y un acúmulo anormal de productos de desecho del metabolismo celular¹².

Algunas cardiopatías pueden ser ocasionadas por diferentes patologías de origen endógeno atribuibles a una alteración del huésped (genéticas, congénitas, nutricionales, metabólicas, degenerativas, autoinmunes, inflamatorias, endocrinas, mentales) y/o por enfermedades exógenas atribuibles al efecto de la acción directa del agente sobre el huésped (infecciosas, parasitarias, venéreas, tóxicas, traumáticas, alérgicas, iatrógenas) así como por diversos factores de riesgo atribuibles a los efectos del ambiente y del agente en conjunto sobre el huésped¹³. Algunas de ellas son:

2.7. Infarto Agudo al Miocardio

Término utilizado para describir el proceso de cambios necróticos agudos en el miocardio debido a la privación de forma repentina y catastrófica del aporte sanguíneo coronario durante un período de tiempo suficiente, resultado casi siempre de una oclusión coronaria aguda¹⁴.

2.7.1. Oclusión Coronaria

Es la obstrucción súbita, total o parcial del tronco coronario principal o de alguna de sus ramas., ya sea como resultado del desarrollo de una Trombosis, Rotura de ateroma, por una hemorragia y/o por una inflamación dentro de la pared interna de la arteria¹⁵.

2.7.2. Trombosis

Es la formación de un coágulo en el interior de un vaso sanguíneo y uno de los causantes del infarto agudo al miocardio. También se denomina así al propio proceso patológico, en el cual, un agregado de plaquetas o fibrina ocluye un vaso sanguíneo. Los sitios de formación de trombo son en el corazón, arterias, venas y capilares, por lo que la trombosis puede formarse en cualquier parte del aparato circulatorio. Cuando un vaso sanguíneo se lesiona, el cuerpo utiliza plaquetas (trombocitos) y fibrina para formar un coágulo y así prevenir la pérdida de sangre. Incluso cuando un vaso sanguíneo no se lesione, los coágulos se pueden formar en el cuerpo en ciertas condiciones. Un coágulo que se desprende y comienza a viajar por todo el cuerpo se conoce como embolia. Las causas pueden ser:

a) Alteración en los vasos sanguíneos (arteriosclerosis y/o ruptura traumática)

b) Alteración en los factores de la coagulación (trombina, protrombina o por la disminución de la Proteína C, Proteína S, llamadas estas últimas trombofilias).

Los mecanismos que favorecen la formación de un trombo, son las alteraciones del flujo sanguíneo y pueden deberse al reposo excesivo en cama (pacientes post-operados). Además, durante una intervención quirúrgica se han estimulado los factores de coagulación por la rotura de vasos, la sutura y una serie de intervenciones que involucran al aparato vascular. Otra causa que influye en la trombosis son los componentes de la sangre. Cuando la sangre es más densa disminuyen los líquidos y aumentan los elementos figurados. Además de que hay una hemoconcentración, también puede existir una policitemia. Dentro de esto se incluye las trombosis a repetición. Otras patologías que pueden provocar una trombosis son aquellas que presentan flujos en torbellinos, como los estrechamientos valvulares.

Un claro ejemplo de esto es la estenosis mitral, en donde el flujo en la aurícula se hace más lento y favorece la trombosis.; en ella hay que tomar en cuenta que lo más probable es que haya una trombosis en la orejuela y en alguna parte de la pared de la aurícula., lo que finalmente ocasiona que la contracción de la aurícula sea ineficiente. Debido a que la aurícula no se contrae y además de que existe una oclusión durante la salida, el flujo sanguíneo disminuye parcialmente y se hace más lento, lo que provoca que se formen los coágulos (trombos) Otra causa de trombosis es el daño del endotelio. Si un vaso se inflama por un trauma, se produce una lesión de la vecindad y daño endotelial, que desencadena inmediatamente la cascada de coagulación depositándose trombos en la superficie del vaso^{16, 17}.

2.7.3. Embolo

Es la masa sólida, líquida o gaseosa que puede ser liberada al torrente sanguíneo por medio de algún tipo de fractura o lesión, el cual es transportado por la sangre a un lugar del organismo distinto del punto de origen, pudiendo provocar una embolia, apoplejía cerebral o aneurismas¹⁸. Se distinguen tres tipos de émbolos, dependiendo del estado físico de la partícula a la deriva: sólido, líquido o gaseoso. Estos cuerpos extraños pueden presentarse en distintos tamaños y formas. Las variaciones en tamaño implican la posible obstrucción de casi toda la gama de vasos existentes en el cuerpo: arterias (caso más común), arteriolas, capilares, vénulas y venas.

Los émbolos sólidos son los más frecuentes y generalmente se producen durante la disolución de un trombo, resultando un émbolo trombótico. Pueden alcanzar tamaños considerables, llegando a ser mortales, por ejemplo, cuando la oclusión ocurre en la arteria pulmonar. Los émbolos líquidos se pueden producir por embolia grasa, causada por fractura, donde ocurre una infiltración de restos de tejido adiposo en los vasos, o por embolia de líquido amniótico, observada en partos complicados donde un desgarro en el miometrio permite la entrada del líquido, rico en células muertas, grasa, lanugo, trofoblastos, etc., a las venas de la madre. Los émbolos gaseosos se producen por una descompresión abrupta, que genera burbujas dentro de la sangre. Este tipo de embolia es común en buzos, cuando ascienden rápidamente desde profundidades considerables del mar hasta la superficie. También puede ocurrir durante cirugías en tórax o cuello, o por heridas profundas en tórax. Basado en la ruta que toma el émbolo, puede haber tres tipos:

1.- Anterógrada

2.- Retrógrada

3.- Paradójica

En un émbolo anterógrado, se ha observado que el movimiento del émbolo es en dirección del flujo sanguíneo. En el embolismo retrógrado, un caso poco frecuente, el peso del émbolo es tal que se opone a la dirección del flujo sanguíneo, usualmente de importancia solo en venas con una velocidad sanguínea baja. En el embolismo paradójico, también llamado embolismo cruzado, el émbolo de una vena cruza al sistema arterial, usualmente se produce en defectos del corazón donde existe un shunt sanguíneo o en fístulas arteriovenosas¹⁹.

2.7.4. Arteriosclerosis

Es un término generalizado utilizado en medicina que se refiere al endurecimiento y/o estrechamiento (estenosis) de las arterias de mediano y gran calibre, que puede progresar hasta producir la oclusión del vaso impidiendo el flujo de la sangre por la arteria afectada. Proviene del griego *arterio*, que significa «arteria» y *sclerosis* que significa «cicatriz, rigidez»²⁰.

2.7.5. Aterosclerosis

Síndrome caracterizado por el depósito e infiltración de sustancias lipídicas en las paredes de las arterias de mediano y grueso calibre. Es la forma más común de arteriosclerosis²¹.

Los términos arteriosclerosis y aterosclerosis son muy similares en su escritura y en parte de su significado, sin embargo, ambos términos son muy diferentes y por eso es muy importante no confundirlos entre ellos^{22, 23}. El término aterosclerosis proviene de las palabras griegas *ἀθήρο-* (*athéro-* ('pasta')) y *σκληρός* (*sklerós* ('duro')). No proviene de *ἀρτηρία* (*arteria* ('arteria')). La aterosclerosis provoca una reacción inflamatoria y la multiplicación y migración de las células musculares lisas de la pared, que van produciendo estrechamientos de la luz arterial. Los engrosamientos concretos son denominados placa de ateroma²¹. Los ateromas son lesiones focales (características de la aterosclerosis) que se inician en la capa íntima de una arteria.

El exceso de partículas de LDL en el torrente sanguíneo se incrusta en la pared de la arteria. En respuesta, los glóbulos blancos (monocitos) llegan al sitio de la lesión, pegándose a las moléculas por adhesión. Este nuevo cuerpo formado es llevado al interior de la pared de la arteria por las quimiocinas. Una vez dentro de la pared, los monocitos cubren la LDL para desecharla, pero si hay demasiada, se apiñan, volviéndose espumosos. Estas "células espumosas" reunidas en la pared del vaso sanguíneo forman una veta de grasa. Este es el inicio de la formación de la placa de ateroma²⁴. Finalmente, las células espumosas acaban por estallar y formar una masa de macrófagos muertos, colesterol, ácidos grasos, triglicéridos y restos de las lipoproteínas de color amarillento, que unido a la inflamación local de la íntima, reducen mucho la luz de la arteria, lo que técnicamente se conoce como estenosis. Esto, sumado a la aparición de colágeno en el punto de lesión, que atrapa la masa formada, es lo que acaba formando la placa²⁴. Esta situación ocasiona el cierre total o parcial de las arterias causando una isquemia en ese punto concreto o desprendiéndose en forma de émbolo y bloqueando cualquier otra arteria del cuerpo que puede derivar, en su manifestación más crítica, en forma de un infarto agudo al miocardio o un infarto cerebral²⁴.

2.7.6. Hemorragia Subíntima

Es un sangrado por debajo de la placa que puede dislocar la placa que obstruye el vaso; la hemorragia se forma como resultado de una lesión aterosclerótica que daña la pared arterial subyacente¹⁰.

El ataque cardíaco se presenta cuando un área del músculo muere o se lesiona permanentemente debido a una provisión de oxígeno inadecuada a esa área²⁵. La isquemia prolongada del músculo cardíaco se va a extender dependiendo del vaso sanguíneo ocluido, la presencia de oclusiones adicionales y lo adecuado de la irrigación colateral²⁶.

De todas las anteriores la que en la actualidad se manifiesta más frecuentemente debido al incremento de la hipertensión arterial como consecuencia del llamado síndrome metabólico es el infarto al miocardio, por ello mencionaremos como es su desarrollo

2.8. Desarrollo del Infarto Agudo del Miocardio (IAM)

Los daños al miocardio o también denominados ataques cardíacos se dividen en dos tipos según su gravedad:

1. Infarto agudo de miocardio con elevación del segmento ST «**IAMEST**»; esta elevación indica que se ha lesionado una gran cantidad de músculo cardíaco. En un IAMEST, la arteria coronaria está completamente obstruida por un coágulo sanguíneo, de modo que todo el músculo cardíaco que normalmente recibe sangre de la arteria afectada comienza a morir.
2. Infarto agudo de miocardio sin elevación del segmento ST «**IAMSEST**», la arteria coronaria sólo está parcialmente obstruida, de modo que sólo puede lesionarse una parte del músculo cardíaco irrigado por la arteria afectada, en este tipo de infarto al haber una elevación del segmento ST, es muy difícil determinar por medio de un electrocardiograma, si una persona tiene un ataque cardíaco o un episodio de angina²⁷.

El desarrollo de la patología se da de acuerdo a los siguientes pasos:

1. La oclusión de los vasos coronarios producida habitualmente por la obstrucción en la(s) arteria(s), que se desarrolla de forma progresiva a partir de la acumulación focal de lípidos, carbohidratos complejos, sangre y sus productos, tejidos fibrosos y depósitos de Calcio (Figura 6)²⁸, da como resultado una respuesta mecánica inicial, que es un lento estrechamiento de la luz arterial, lo que impide que llegue sangre rica en oxígeno y nutrientes a una sección del corazón, ésta puede deberse a un único o múltiples obstáculos, y pueden variar en gravedad y ubicación. Las obstrucciones en el lado izquierdo del corazón son generalmente más peligrosas²⁷.

Esquema de la Oclusión de una Arteria

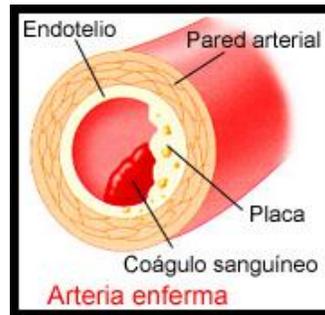


Figura 6. Se observan los cambios que suceden en la pared de una arteria enferma provocados por el acúmulo de grasa y/o células ²⁷.

2. La obstrucción de la arteria dan como resultado una reducción de flujo sanguíneo (figura 6), lo que produce una serie de eventos que incluyen: alteraciones en la permeabilidad vascular, conversión del estrechamiento activo del miocito en un alargamiento sistólico pasivo, disminución de la fosfocreatina y detención del metabolismo aeróbico seguida del inicio del metabolismo anaeróbico, lo que condiciona la generación de diferentes metabolitos (lactato, radicales libres, etc.) tóxicos para la célula^{29, 30}.

3. Después de 5 minutos de oclusión coronaria, la contracción del miocardio isquémico permanece deprimida significativamente.

4. A los 15 minutos de oclusión coronaria, la concentración del ATP en el miocardio disminuye sustancialmente, permaneciendo deprimida por muchas horas y a veces por días, aunque regresa a la normalidad alrededor de los 7 días³⁰.

5. Veinte minutos después de ocurrida la oclusión coronaria, se produce la desaparición de los depósitos de gránulos de glucosa y el desarrollo del edema celular. Estas son las primeras secuelas de la falta de oxígeno, junto con la alteración estructural de las mitocondrias.

6. A los 60 minutos de transcurrida la obstrucción, se produce el "hinchamiento" de las células, lo que altera por completo a las miofibrillas y produce el daño muscular. A partir de allí, el fenómeno isquémico deriva en una necrosis irreversible, con la alteración del retículo sarcoplásmico y el daño de la membrana celular, la cual se desprende de la célula y ocasiona la liberación de las proteínas estructurales del miocito.

7. Finalmente, la célula se deforma por completo e intenta evitar la alteración de las estructuras mitocondriales como un último esfuerzo biológico antes de declararse muerta.

En el universo microscópico, la oclusión coronaria se manifiesta en el músculo con la aparición de bandas de contracción (denominación de la coagulación del miocito o miocitólisis coagulante, que son producidas por el intenso incremento del calcio celular); estas bandas pueden ser observables en un microscopio durante las primeras 8 horas que siguen a la obstrucción de la arteria. A partir de la hora 8 de ocurrida la obstrucción coronaria, aparecen imágenes de edema intersticial como el depósito de grasas en las mismas fibras musculares. Concomitantemente se aprecia la infiltración de células pro-inflamatorias, como los neutrófilos, etc. A las 24 horas de ocurrida la necrosis, desaparecen las estriaciones del músculo asociadas a una intensa infiltración de células polimorfo nucleares.

A la semana de producido el infarto del miocardio desaparecen las fibras necrosadas y se atenúa la presencia de las células inflamatorias, las cuales son reemplazadas por tejido granulomatoso, que se extiende como una onda, desde el borde de la herida hacia el centro. Este proceso continúa en el curso de las semanas siguientes, hasta que el tejido inflamatorio es reemplazado por una organizada estructura de colágeno, conformando un tejido conectivo firme que declara la escara necrótica remanente, la cual, patológicamente, adquiere una coloración gris³¹. Después del primer mes desaparecen las células libres y, en general también los restos necróticos. Sin embargo, en infartos muy extensos pueden persistir en medio del tejido reparativo islotes de miocardio necrótico. Finalmente, el tamaño, las características y la arquitectura de la escara se modifican a lo largo de los primeros meses tras un IAM. El conocimiento de los patrones de evolución de la escara podría ser relevante para la estratificación de riesgo de los pacientes con algún tipo de cardiopatía isquémica³².

2.8.1. Papel de los Colaterales

Cuando se presenta una oclusión total o subtotal de una arteria coronaria, el organismo responde a la obstrucción dilatando otro vaso que pueda suplir un porcentaje importante de la circulación del territorio afectado³³. Este vaso pasa a ser lo que se denomina como fuente de circulación colateral. Las colaterales existen en todos los corazones como canales no funcionales de 20 a 200 μm . Cuando se produce la oclusión coronaria hay una caída en la presión distal a la oclusión que da lugar a la apertura de los colaterales.

Aunque la apertura de las colaterales es inmediata a la falta de flujo sanguíneo por oclusión, transcurre un período entre 3 semanas y 6 meses para su maduración. El flujo recibido por las colaterales puede ser suficiente para evitar la isquemia en condiciones basales o de ejercicio ligero. Sin embargo, el flujo puede ser inferior al normal cuando se realizan esfuerzos importantes o se administran tratamientos con vasodilatadores²⁹. Si la oclusión persiste en ausencia de una adecuada circulación coronaria colateral, el déficit de perfusión resultará en un daño estructural irreversible. Un bloqueo completo puede causar un ataque cardíaco, con consecuencias fatales³⁴.

2.9. Consecuencias de la Obstrucción Coronaria

La obstrucción coronaria también puede ocasionar irregularidades en el ritmo cardíaco, denominadas arritmias, éstas pueden dividirse en dos categorías: ventriculares y supraventriculares. Las primeras se producen en las dos cavidades inferiores del corazón, denominadas «ventrículos». Las segundas se producen en las estructuras que se encuentran encima de los ventrículos, principalmente las aurículas, que son las dos cavidades superiores del corazón. Otra clasificación de las arritmias es de acuerdo a la velocidad de los latidos y son:

2.9.1. Bradicardia

En ella se observa una frecuencia cardíaca muy baja de menos de 60 latidos por minuto. Se produce cuando el impulso eléctrico que estimula la contracción del corazón no se genera en el marcapasos natural del corazón, el nódulo sinusal o sinoauricular (nódulo SA), o cuando no es enviado a las cavidades inferiores del corazón (los ventrículos) por las vías correctas.

2.9.2. Taquicardia

En ésta, la frecuencia cardíaca es muy elevada, de más de 100 latidos por minuto. Hay muchos tipos diferentes de taquicardia, según dónde se origine el ritmo acelerado. Si se origina en los ventrículos, se denomina «taquicardia ventricular». Si se origina por encima de los ventrículos, se denomina «taquicardia supraventricular», etc. Los síntomas que se presentan en estas patologías van a depender de los tejidos o de los órganos afectados por falta o insuficiencia del aporte sanguíneo³⁰.

En los casos típicos, el síntoma más importante es el dolor, intenso, opresivo y angustiante, ubicado o irradiado en la región anterior del pecho, epigastrio, dorso, cuello y mandíbulas, de varias horas de duración, acompañado de sudoración y síntomas vagotónicos.

También se manifiesta como síntoma secundario a una arritmia o a falla ventricular izquierda aguda: síncope, disnea, edema pulmonar agudo, etc³⁵, otros posibles síntomas son la falta de aliento, la confusión, el mareo, el desvanecimiento, la sudoración o las náuseas de origen desconocido. No todos presentan los síntomas clásicos, algunas personas sienten una sensación de ardor, similar a la de una indigestión o a la acidez estomacal, y el dolor puede estar concentrado en una zona pequeña del pecho³⁶. Algunos pacientes no sienten síntoma alguno²⁷. En la mayor parte de los casos, el IAM es sintomático, sin embargo no son infrecuentes los casos poco sintomáticos o aquellos que se presentan como muerte súbita³⁵, en las dos últimas situaciones los pacientes mueren en el transcurso de las primeras dos horas después del inicio de los síntomas, siendo difícil en estos casos demostrar los cambios estructurales de la necrosis aguda del miocardio pues las técnicas anatomopatológicas disponibles, no son capaces de descubrir los cambios más tempranos del infarto; siendo en estos casos la muerte consecuencia de arritmia grave por cambios electrofisiológicos precoces que llevan a la muerte súbita³⁷.

En forma general una irrigación miocárdica inapropiada produce lo que se denomina "**isquemia**", sin embargo, no todas las isquemias son iguales; se diferencian por su duración, intensidad (de acuerdo a la demanda miocárdica), por la presencia de vasos colaterales y por el fenómeno de precondicionamiento isquémico precoz y tardío^{33, 38}, y éstas finalmente nos llevarán al IAM. Las diferentes situaciones isquémicas en las arterias coronarias derivarán en la necrosis cardíaca y su consiguiente remodelación o bien se puede presentar el fenómeno del miocardio aturdido y/o el miocardio hibernante³⁸, (Figura 7). Si la isquemia es grave o dura demasiado tiempo, puede dar lugar a un ataque al corazón (infarto de miocardio) y la muerte de tejido cardíaco. En la mayoría de los casos, una interrupción momentánea del flujo de sangre al corazón causa el dolor de la angina de pecho. Pero en algunos casos no se produce dolor. Esto se denomina «isquemia silenciosa». La isquemia silenciosa (o asintomática) también puede alterar el ritmo cardíaco. Los ritmos anormales, tales como los que se producen en la taquicardia ventricular o la fibrilación ventricular, pueden afectar a la capacidad de bombeo del corazón y causar desmayos o incluso muerte súbita cardíaca³⁹.

El proceso de isquemia miocárdica deriva en una serie de desórdenes metabólicos que son desencadenados por el inicio de la oclusión, y que en muchos casos pueden ejercer un efecto perjudicial.

Fisiopatología de la Isquemia-Reperfusión

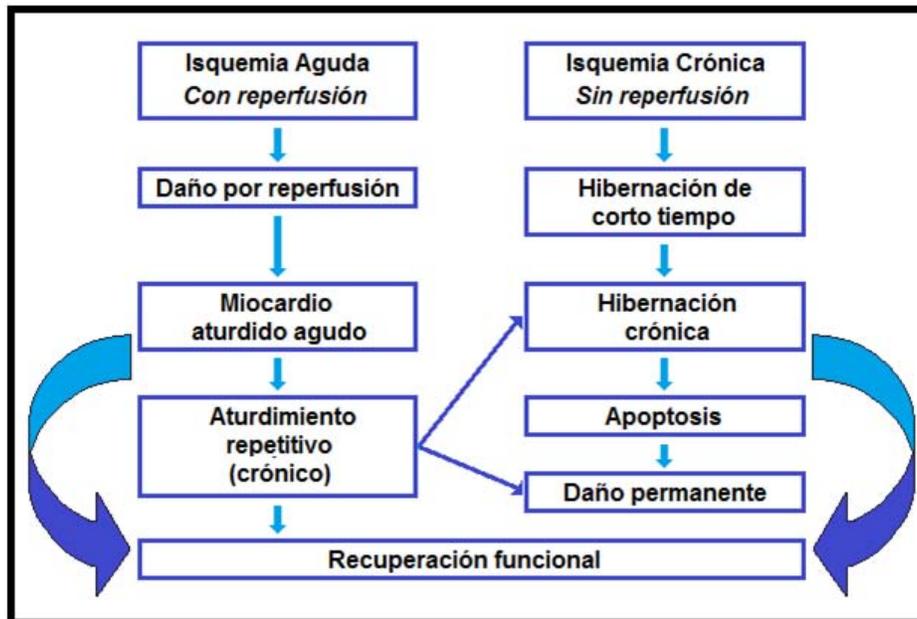


Figura 7. Se muestran algunos desordenes metabólicos y consecuencias del proceso de isquemia-reperfusión ²⁹.

2.10. Desordenes Metabólicos

2.10.1. ATP: Durante el proceso de isquemia, la capacidad de generar energía por los miocitos (ATP y fosfato de creatina) se reduce hasta el extremo y se agotan las reservas energéticas en un breve período de tiempo⁴⁰. El tejido en anoxia mantiene la generación de energía prácticamente de manera exclusiva por la glucólisis anaeróbica, cuya eficiencia en la generación de ATP por las reacciones de fosforilación a nivel del sustrato es limitada⁴¹; sobre todo si tenemos en cuenta que durante el metabolismo anaerobio sólo se obtienen 3 moléculas de ATP por cada molécula de glucosa, en lugar de las 38 obtenidas en condiciones aerobias⁴⁰.

Durante esta serie de condiciones, el miocito intenta generar ATP por otras vías, por medio de la producción de moléculas de AMP⁴⁰, lo que ocasiona que se produzca una acumulación de nucleótidos precursores, ADP y AMP, situación que se incrementa como consecuencia del aumento en la actividad de la enzima adenilato kinasa tendiente a generar ATP ($2 \text{ ADP} \rightarrow \text{ATP} + \text{AMP}$), que resulta en una mayor concentración de AMP, lo que propicia que el AMP sea degradado rápidamente al nucleósido (inosina) y a la base púrica libre hipoxantina la cual es oxidada primero a xantina y posteriormente a ácido úrico en una reacción catalizada por la xantina oxidasa (XO).

La XO es un dímero que funciona como un complejo *mini-transportador de electrones*, cuyo aceptor final es O_2 que suele ser eficientemente transmutado a peróxido de hidrógeno⁴¹. La contracción cesa pronto por la falta de energía (ATP) y el desplazamiento de los iones de calcio de las miofibrillas por los radicales de hidrógeno generados en la acidosis⁴⁰.

2.10.2. Sodio y Potasio: La disminución de la perfusión tisular por la oclusión de una arteria coronaria produce durante los primeros minutos una disminución muy marcada de la creatinina y la fosfatasa³⁰. También ocasiona la detención del metabolismo aeróbico, lo que provoca que se inicie el metabolismo anaeróbico que genera ácido láctico y la subsecuente producción de iones hidrógeno junto con el desarrollo de la acidosis intracelular. Esta última, tiene un importante efecto inotrópico negativo por lo que la célula miocárdica tiene que recurrir a varios mecanismos para mantener su pH intracelular. En los humanos el intercambiador de Na^+/H^+ tipo 1 (NHE-1) es el más importante; la acidosis intracelular resultante de la isquemia activa al NHE-1 con eliminación de H^+ intracelular, que a su vez activa a la ATP Na^+/K^+ , lo que al progresar la isquemia hace que el miocito sea incapaz de regular la sobrecarga de Na^+ ²⁹. La célula trata de corregir esta sobrecarga de Na^+ a través del intercambiador de membrana Na^+/Ca^{2+} en su modo reverso, que no requiere energía para funcionar, extruyendo el Na^+ intracelular a costa de introducir Ca^{2+} al interior de la células, de esta forma se inicia un proceso de pérdida progresiva del control de Ca^{2+} , uno de los cationes que en condiciones fisiológicas se encuentra más estrictamente regulado en el medio intracelular⁴². Por otro lado, la isquemia severa persistente, junto con la ausencia de reperfusión, pueden ocasionar la hinchazón de la célula, debido a que durante el proceso de isquemia se produce una anomalía en la bomba de intercambio de sodio-potasio en el sarcolema, lo que provoca un incremento en la permeabilidad de la membrana celular e induce la formación de partículas intracelulares osmóticamente activas.

Esto a su vez produce un defecto grave en la regulación del volumen celular que finalmente ocasiona un marcado incremento del agua dentro de la célula y el tejido. Este fenómeno recibe el nombre de hinchamiento celular. El hinchamiento de la célula puede causar la compresión de los lúmenes de los vasos pequeños, lo que lleva también a la perfusión reducida de estos órganos³⁰.

2.10.3. Calcio: Durante el proceso de isquemia, las células son privadas de oxígeno, lo que ocasiona la disminución progresiva de los valores celulares de ATP y el incremento de la concentración de fosfatos, esto a su vez ocasiona que las bombas de iones dejen de funcionar, limitando la salida del calcio de la célula, dando como resultado la acumulación de éste ion en su interior²⁹.

El influjo masivo de calcio a los compartimentos intracelulares⁴³, produce una serie de eventos perjudiciales en la célula: hipercontractura miofibrilar, hinchamiento celular explosivo, degradación tisular con liberación de enzimas, parálisis y muerte celular, denominados **PARADOJA DEL CALCIO**³⁰. La alteración en la homeostasis de la concentración de calcio, puede desencadenar una serie de arritmias que pueden ser fatales durante el Infarto agudo al miocardio.

El incremento de la concentración de calcio, puede ocasionar la activación de la autofagia y al mismo tiempo puede transformar algo de la maquinaria de la autofagia en apoptosis. El exceso de iones calcio también puede activar la síntesis de un grupo de enzimas llamadas calpaínas neutras activadas por calcio, ellas forman parte de una familia de proteasas con un papel metabólico muy activo. Aunque su sustrato natural no está claramente determinado, estas enzimas catalizan la hidrólisis de una variedad de proteínas implicadas en la transducción de señales, en la reconstrucción del citoesqueleto, en la regulación del ciclo celular y en la apoptosis. La sobre activación de las calpaínas está implicada en numerosas enfermedades, tales como las isquemias cerebral y cardiaca, Alzheimer, Parkinson, distrofia muscular, cataratas, enfermedades desmielinizantes (como la esclerosis múltiple) y otras enfermedades degenerativas⁴⁴. Como consecuencia del desequilibrio osmótico e iónico desencadenado por la isquemia en el miocito, se produce la activación de proteasas, fosfolipasas, desorganización estructural y finalmente la muerte celular. Otros factores involucrados en la cascada de la isquemia son los oxi-radicales y la endotelina. Los primeros, son metabolitos altamente reactivos al oxígeno, cuando se acumulan pueden contribuir a la lesión inducida por la reperfusión y la aparición de arritmias.

La concentración plasmática de endotelina I aumenta durante los episodios de isquemia, y se sabe que es un potente vasoconstrictor coronario que aumenta la concentración de calcio citosólico, con lo que contribuye a la muerte celular⁴⁰.

Sin embargo, durante largos periodos de isquemia severa, el daño no solo es causado en los miocitos, también pueden existir cambios en la capilaridad de células endoteliales, lo que a su vez puede contribuir a aumentar la resistencia vascular. La isquemia es la primera causa de lesión irreversible hacia los miocitos seguida de la oclusión coronaria, la isquemia también ocasiona la pérdida de las enzimas, superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa, las cuales pueden proteger al corazón de los radicales libres derivados del oxígeno. La duración y la severidad de la isquemia en el miocardio, son dos factores determinantes de la muerte celular.

En efecto, el producto del déficit de flujo sanguíneo en el miocardio y la duración de la isquemia han mostrado que se correlacionan para producir la extensión final de necrosis en el miocardio³⁰. El grado de extensión de la muerte celular (necrosis) causada por una oclusión coronaria aguda depende no sólo de la extensión del área en riesgo, sino también de la severidad y duración de la isquemia (Figura 8). La supervivencia de las células isquémicas depende de diversos factores, uno de ellos es la duración de la isquemia a la que han estado sometidas y otro es el momento en que se produce la restauración del flujo sanguíneo que es el factor determinante del éxito de la terapia por reperfusión.

Oclusión Coronaria

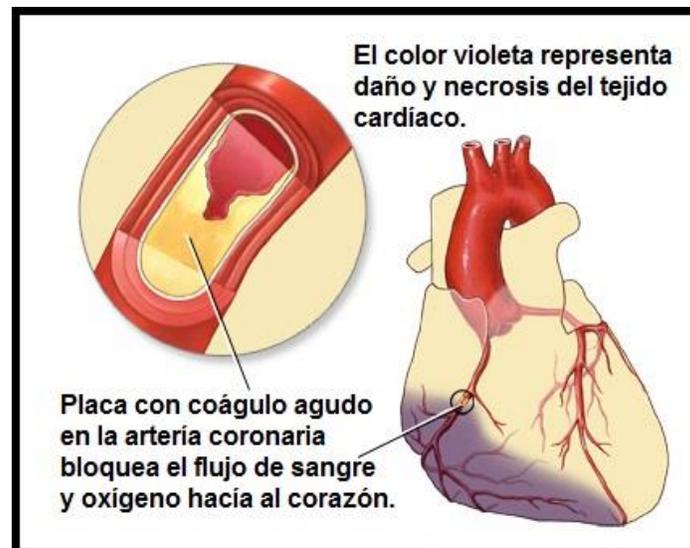


Figura 8: Se muestra bloqueo completo del flujo sanguíneo a través de una de las arterias coronarias, generalmente a consecuencia de aterosclerosis coronaria⁴⁵.

2.11. Reperfusión

El objetivo principal de la reperfusión consiste en restablecer el flujo sanguíneo y proveer el oxígeno y sustratos metabólicos necesarios para la recuperación y supervivencia del tejido hipóxico. Por lo que si la reperfusión ocurre de manera oportuna antes de que el daño sea irreversible, la célula puede recuperarse, facilitando el rescate del tejido isquémico²⁹. Este conocimiento ha hecho que se invierta un gran esfuerzo en disminuir el tiempo que se tarda desde que un paciente siente un dolor torácico hasta que se le practica una reperfusión terapéutica.

Sin embargo, cada vez es más costoso y difícil conseguir una reducción adicional de este intervalo de tiempo y, a pesar de las mejoras en los procedimientos que permitan la reapertura efectiva, rápida, completa y permanente de las arterias coronarias ocluidas, la gran mayoría de los pacientes continúan presentando necrosis miocárdicas extensas^{29,42}. La terapia de reperfusión, con agentes trombolíticos y/o por procedimientos invasivos, no garantiza que las células isquémicas sobrevivan, y numerosos estudios de investigación llevados a cabo en las últimas dos décadas han establecido de forma inequívoca que, aunque la revascularización es la única alternativa posible para rescatar las células isquémicas de una muerte segura, una parte de la muerte celular se precipita, paradójicamente, por la propia restauración del flujo⁴².

Por lo tanto, la reperfusión, también posee la amenaza de generar una lesión adicional o extra al miocardio, conocida como **Lesión por Reperfusión**⁴⁶, esta se define como el efecto adverso producido al restablecerse la circulación y propiciar la llegada de sangre y nutrientes a las células previamente isquémicas. Sin embargo, en contra de lo esperado, algunas células miocárdicas sufren mayor daño una vez que el flujo coronario se ha restablecido.

Este daño condicionado por la reperfusión está relacionado, entre otras causas, con el incremento brusco del oxígeno, del calcio (Figura 9), la producción y liberación de radicales libres, la disfunción mitocondrial, la infiltración de diversas células inflamatorias y la generación de múltiples factores humorales mediadores de la inflamación, así como con diversos productos resultantes de las alteraciones en el metabolismo de la glucosa y de los ácidos grasos.

Todas estas situaciones pueden condicionar un daño en el miocardio de manera funcional, estructural y clínicamente, se manifiesta después del restablecimiento de la circulación coronaria previamente bloqueada, o después de una cirugía cardíaca (angioplastia, revascularización quirúrgica, etc.), manifestándose como miocardio aturrido o hibernante, si el daño es microvascular, también se puede presentar el fenómeno de «no reflujo»²⁹.

Fisiopatología del Daño Celular inducido por el Calcio Durante la Reperusión

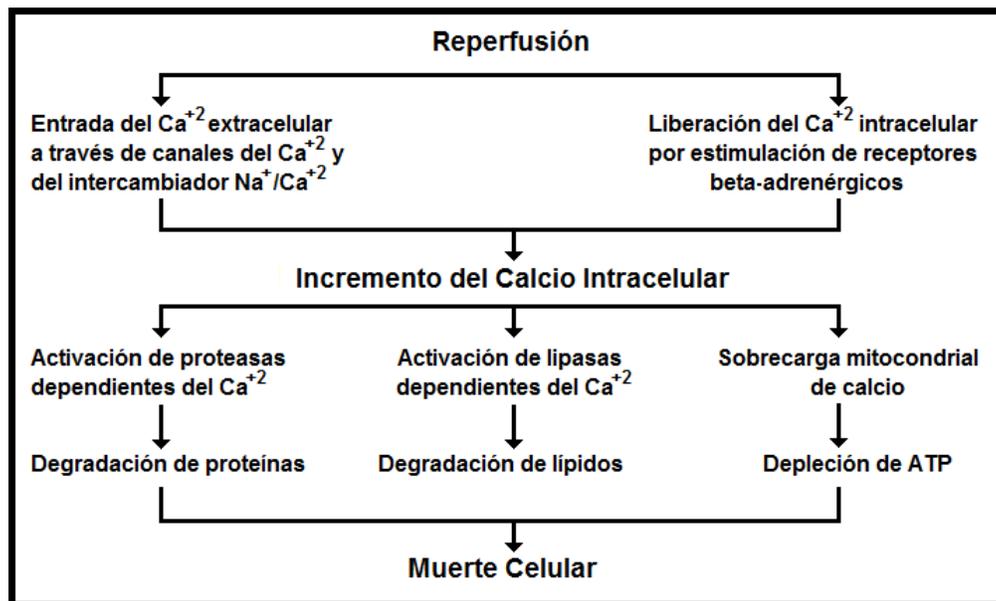


Figura 9. Esta información sugiere que los eventos que suceden en el transcurso de la Reperusión pueden tener un gran impacto en el destino de la célula y una oportuna intervención durante este periodo puede proteger al miocito ²⁹.

2.12. Modelos experimentales de IAM

2.12.1 Miocardio Aturdido (STUNNED): Este concepto surgió en 1975 con el trabajo del grupo de Vatner, que observó en animales de experimentación que el miocardio sometido a un breve período de isquemia y que no había sufrido un daño irreversible mostraba una disminución de la función miocárdica regional, la cual persistía incluso después de restablecido el flujo sanguíneo en forma completa y de que habían desaparecido los cambios electrocardiográficos.

Posteriormente, Braunwald y Kloner contribuyeron a caracterizar este fenómeno utilizando el término «aturdimiento miocárdico» para referirse a la disfunción ventricular postisquémica que persiste después de la reperusión pese a que el daño fue reversible.²⁹ Diversos estudios han mostrado que existe una relación entre el aturdimiento miocárdico y el daño por reperusión⁴⁷. Múltiples variables intervienen, de manera favorable o desfavorable, en el desarrollo del miocardio aturdido, entre otras: la presencia y el grado de circulación colateral coronaria^{48,49}, la temperatura miocárdica, el nivel basal de la función miocárdica, el tamaño de la zona sometida a isquemia-reperusión, la frecuencia cardíaca, la presión arterial y el flujo sanguíneo coronario.

Se reconocen 2 tipos de daño por reperfusión, dependiendo del momento en que ésta se realiza: el daño por reperfusión temprana y el daño por reperfusión tardía. Esto se traduce en el aturdimiento agudo y el aturdimiento crónico (Figura 10 y Tabla No. 1)

Comportamiento del Miocardio en la Isquemia-Reperfusión

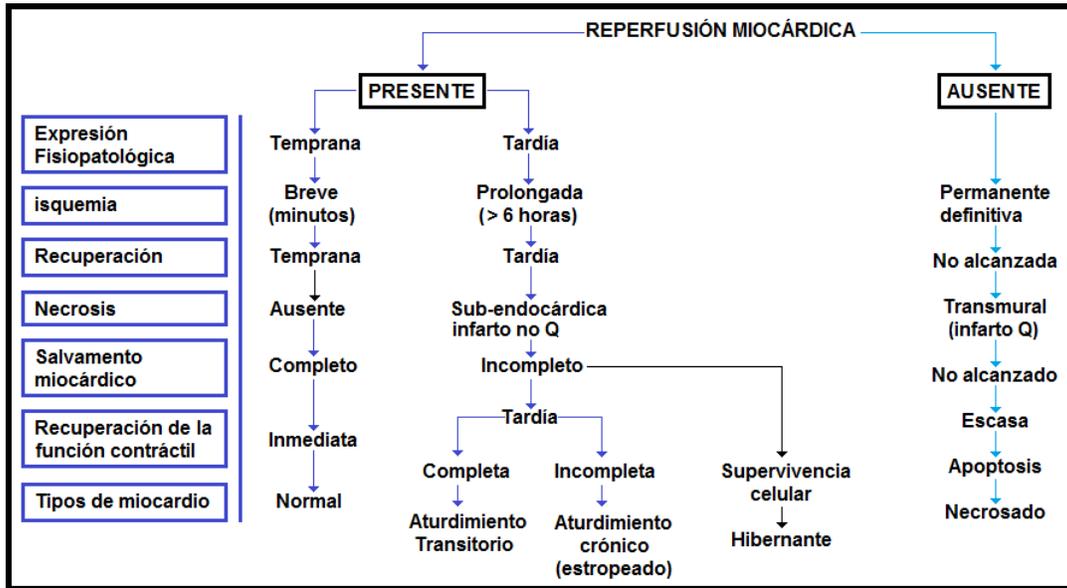


Figura 10. En ella se observan los cambios que se presentan en la reperfusión ²⁹

Papel del calcio en las dos fases del aturdimiento miocárdico		
	Fase I. Temprana transitoria	Fase II. Tardía establecida
Calcio citosólico	Aumentado	Normal
Contractilidad	Transitoriamente normal	Disminuida
Antagonistas del calcio	Benefician	Agravan
Calcio-agonistas	Agravan	Benefician
Catecolaminas	Agravan	Benefician

Tabla No. 1: Papel del calcio durante el aturdimiento miocárdico ²⁹.

2.12.2. Aturdimiento agudo: La isquemia de corta duración (p. ej., 15 a 20 min en animales de experimentación) seguido de un aturdimiento de breve duración. En la fisiopatología de este aturdimiento se encuentran involucrados tanto el fenómeno de la re entrada excesiva de calcio como el daño por radicales libres. Uno de los campos clínicos donde es más evidente este fenómeno de aturdimiento es en la cirugía cardíaca.

2.12.3. Aturdimiento crónico: En el aturdimiento de largo plazo puede aparecer remodelación ventricular izquierda, por lo que otros factores, como la alteración en la síntesis de proteínas, también pueden desempeñar un papel fisiopatológico, además de los ya mencionados para el aturdimiento agudo. La isquemia aguda puede inducir una alteración en la expresión genética que condiciona una alteración en la síntesis de proteínas y esto, a su vez, explicaría la recuperación tardía de la función miocárdica después de un acontecimiento isquémico³⁹.

Los factores que pueden actuar como iniciadores son las catecolaminas, así como el daño del sarcolema o del retículo sarcoplasmático. Por otro lado, existe también la hipótesis de que la isquemia de corta duración pero que se repite a lo largo del tiempo pueda condicionar un aturdimiento crónico. Esto plantearía que ciertos casos de miocardio hibernante fueran condicionados por un aturdimiento crónico²⁹.

2.13. Diferencia Entre Miocardio Aturrido e Hibernante

Existe semejanza entre el miocardio aturrido y el miocardio hibernante en el hecho de que, en ambos, hay un miocardio vivo con disfunción ventricular reversible (Tabla No. 2). Sin embargo, debido a las implicaciones terapéuticas de esta diferenciación, es importante establecer adecuadamente el diagnóstico. La principal diferencia radica en que el miocardio hibernante tiene un flujo sanguíneo deteriorado⁴⁰, a diferencia del miocardio aturrido en que el flujo sanguíneo coronario se ha restablecido⁴¹ (Figura 7 y Tabla No. 2) Así, el miocardio hibernante consiste en la reducción concomitante del flujo sanguíneo coronario y de la contractilidad⁴², mientras que en el aturdimiento, la alteración contráctil persiste tiempo después de haber restablecido la perfusión⁴³.

En el ser humano puede ser difícil distinguir entre aturdimiento e hibernación debido a que, a diferencia de lo que ocurre en los animales de experimentación, en los que la isquemia se puede inducir en corazones sanos, los episodios de isquemia ocurren en un miocardio perfundido por arterias estenosadas⁴⁴. De esta manera, es posible que ambos fenómenos se mezclen. Así, puede ocurrir que en una función ventricular deteriorada debido a una estenosis coronaria se superpongan episodios de aturdimiento que condicionan un mayor deterioro funcional²⁹.

Aturdimiento, hibernación e Isquemia			
Parámetros	Aturdimiento	Hibernación	Isquemia verdadera
Función miocárdica	Reducida	Ausente	Reducida
Perfusión coronaria	Normal/alta	Moderadamente reducida	Gravemente reducida
Energía metabólica miocárdica	Normal o excedida	Al mínimo de supervivencia celular	En reducción progresiva con incrementos alternativos
Duración	Horas a días	Días a meses	Minutos a horas
Recuperación	Completa	Completa si el flujo se restaura	Infarto si la isquemia grave persiste
Cambios en la regulación del calcio	Sobrecarga de Ca^{+2} citosólico en reperfusión temprana	Suficiente ATP, Glucolítico para prevenir la contractura	Insuficiente ATP, Glucolítico para prevenir la reversibilidad

Tabla No. 2: Diferencias entre el miocardio aturdido e hibernante ²⁹.

2.14. Consecuencias del Proceso de Isquemia-Reperfusión

En la fase de isquemia, y por tanto de aporte de oxígeno insuficiente, un fallo energético de la bomba Na-K-ATPasa de membrana provoca un aumento de calcio en el interior de la célula, esto activa una proteasa que irreversiblemente convierte la xantina deshidrogenasa que predomina en vivo, hasta xantina oxidasa. De forma paralela el ATP celular es catabolizado hasta hipoxantina que se acumula. En la reperfusión, el oxígeno, la hipoxantina y la xantina oxidasa se combinan para generar superóxidos y peróxidos de hidrógeno que dañan la célula⁴⁸. (Figura 11)

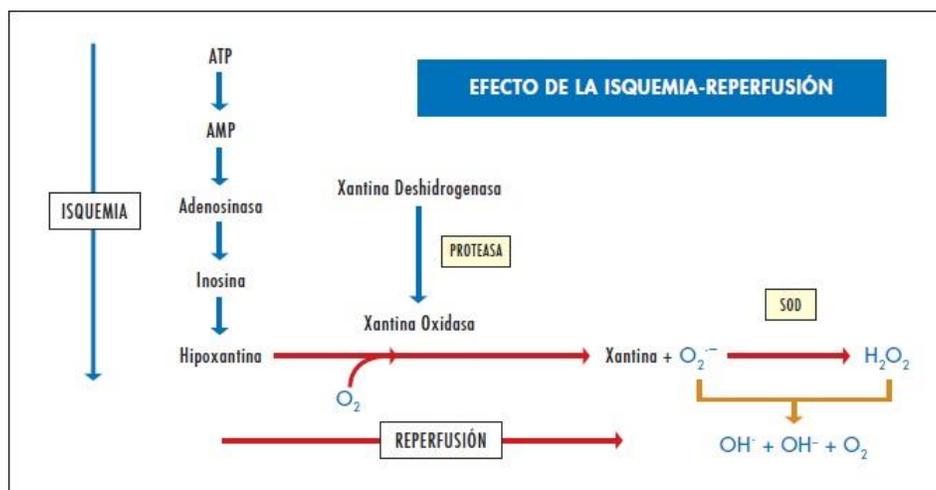


Figura 11. Mecanismo de Producción de ERO en la Isquemia-Reperfusión ⁴⁸.

2.15. Mecanismos de Defensa ante el Estrés Oxidativo en una Isquemia-Reperfusión

La oxidación es una reacción química de transferencia de electrones de una sustancia a un agente oxidante. Aunque las reacciones de oxidación son cruciales para la vida, también pueden ser perjudiciales debido a que se producen radicales libres que comienzan reacciones en cadena que dañan generalmente sustratos biológicos como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos⁵⁰. La oxidación de tales sustratos podrá ser iniciada por dos tipos de especies reactivas: los radicales libres, y aquellas especies que sin ser radicales libres, son suficientemente reactivas para inducir la oxidación⁴⁹, lo cual tiene como consecuencia que el organismo produzca defensas para evitar dicho daño, de esta manera, éste va a producir **agentes antioxidantes**. Un antioxidante es cualquier molécula capaz de prevenir o retardar la oxidación de un sustrato biológico, y en algunos casos revertir el daño oxidativo de las moléculas afectadas, ellos lo hacen por medio de quitar intermedios del radical libre e inhiben otras reacciones de oxidación oxidándose ellos mismos^{49, 51}.

2.16. Clasificación de los Antioxidantes

Como consecuencia de la producción continua de radicales libres (RL) y de sus efectos tan deletéreos, el organismo dispone de sistemas de defensa antioxidante en el citoplasma, membrana celular y espacio extracelular (Figura 12).

Distribución de los Antioxidantes en la Célula y el Espacio Extracelular

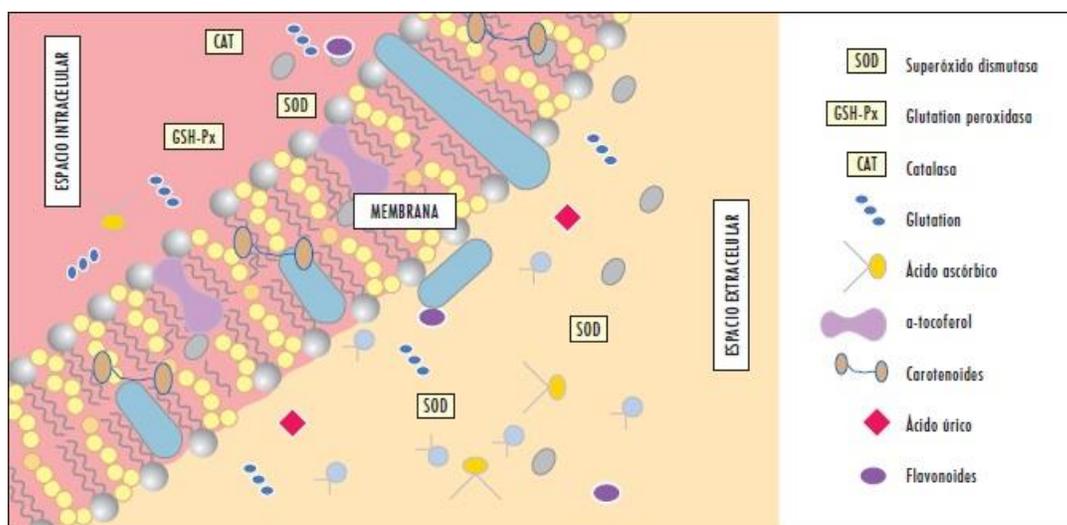


Figura 12. Distribución de algunos sistemas de defensa enzimáticos y no-enzimáticos en los diferentes espacios celulares⁴⁸.

Éstos pueden clasificarse en:

2.16.1. Sistemas de defensa enzimáticos: Se trata de un mecanismo intracelular en el que las enzimas superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa, glutatión S-transferasas, tioredoxina-reductasas y sulfoxi-metionina-reductasas eliminan las especies reactivas del oxígeno una vez formadas.

2.16.2. Sistemas de defensa no-enzimáticos: Como glutatión, ácido úrico, ácido dihidrolipoico, metalotioneína, ubiquinol (o Coenzima Q) y melatonina.

2.16.3. Captadores de RL o “scavengers”: Enlentecen considerablemente las reacciones de oxidación en cadena o atrapan a los RL transformándolos en otras sustancias menos agresivas.

Pueden ser hidrosolubles o citosólicos (glutatión y vitamina C) o liposolubles o de membrana (vitamina E y carotenoides).

2.16.4. Quelantes de metales de transición: Son moléculas que captan el hierro y el cobre como los flavonoides impidiendo que estos metales actúen como catalizadores de las reacciones de Fenton y Haber-Weiss.

2.16.5. Otra clasificación se establece según su origen:

-**Endógenos** (sintetizados por el propio organismo) el glutatión, la SOD y la CAT.

-**Exógenos** (obtenidos a partir de la dieta) se clasifican esencialmente en:

i) Vitaminas-antioxidantes, como ácido ascórbico, alfa-tocoferol y beta-caroteno (o provitamina A).

ii) Carotenoides (como luteína, zeaxantina y licopeno).

iii) Polifenoles, en sus categorías de flavonoides y no-flavonoides.

iv) Compuestos que no caen en las tres categorías anteriores, como son algunos glucosinolatos y ciertos compuestos organoazufrados (ej. isotiocianatos y dialildisulfido respectivamente) ⁴⁸.

De todos ellos para este estudio nos interesa referirnos a los exógenos y principalmente a los polifenoles (flavonoides).

2.17. Compuestos Polifenólicos (CPF)

En la naturaleza existe una amplia variedad de compuestos que presentan una estructura molecular caracterizada por la presencia de uno o varios anillos fenólicos (Figura 13)^{51,52}. Estas sustancias reciben el nombre de compuestos polifenólicos⁵³. Los CPF más sencillos poseen solo un anillo aromático y conforme aumenta el número de sustituyentes, se va incrementando la complejidad de la estructura⁵⁴.

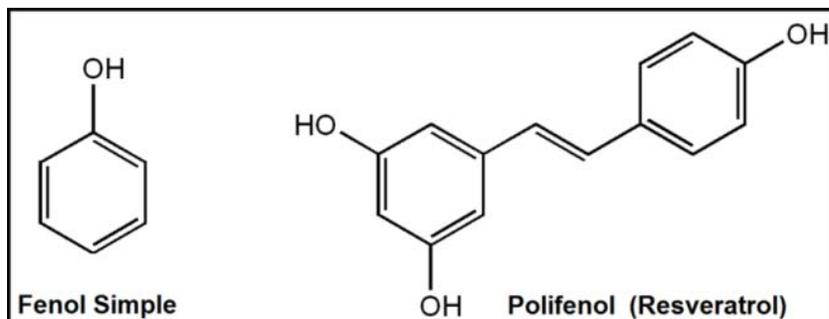


Figura 13. Estructura del fenol y de un compuesto polifenólico ⁵¹.

Se originan principalmente en las plantas, que los sintetizan en gran cantidad, como producto de su metabolismo secundario. Algunos son indispensables para las funciones fisiológicas vegetales. Otros participan en funciones de defensa ante situaciones de estrés y estímulos diversos (hídrico, luminoso, etc.). La biosíntesis de los compuestos polifenólicos tiene lugar a través de dos importantes rutas primarias: la ruta del ácido shikímico y la ruta de los poliacetatos. La ruta del ácido shikímico proporciona la síntesis de los aminoácidos aromáticos (fenilalanina o tirosina), y la síntesis de los ácidos cinámicos y sus derivados (fenoles sencillos, ácidos fenólicos, cumarinas, lignanos y derivados del fenilpropano). La ruta de los poliacetatos proporciona las quinonas y las xantonas. La ruta del ácido shikímico es dependiente de la luz. Se inicia en los plastos por condensación de dos productos típicamente fotosintéticos, la eritrosa-4-fosfato, procedente de la vía de las pentosas fosfato, y el fosfoenolpiruvato, originario de la glucolisis. Tras diversas modificaciones, se obtiene el ácido shikímico, del que derivan directamente algunos fenoles. La vía del ácido shikímico puede continuar con la adhesión de una segunda molécula de fosfoenolpiruvato, dando lugar a la fenilalanina, un aminoácido esencial propio del metabolismo primario de las plantas. La fenilalanina entra a formar parte del metabolismo secundario por acción de la enzima fenilalanina amonioliasa, que cataliza la eliminación de un grupo amonio, transformando la fenilalanina en el ácido trans-cinámico.

Posteriormente, el ácido trans-cinámico se transforma en ácido γ -cumárico por incorporación de un grupo hidroxilo a nivel del anillo aromático. La acción de una CoA, la CoA-ligasa, transforma el ácido p -cumárico en p -cumaroilCoA, que es el precursor activo de la mayoría de los fenoles de origen vegetal. La ruta de los poliacetatos comienza a partir de una molécula inicial de acetil-CoA, y a través de una serie de condensaciones se originan los poliacetatos.

Por reducción de los poliacetatos se forman los ácidos grasos, y por ciclación posterior se forman una gran variedad de compuestos aromáticos, como las quinonas y otros metabolitos que se generan a través de rutas mixtas. Las rutas mixtas combinan precursores tanto de la vía del ácido shikímico como de la ruta de los poliacetatos. Este es el caso de un importante grupo de moléculas biológicamente activas, denominadas genéricamente flavonoides (Figura 14).

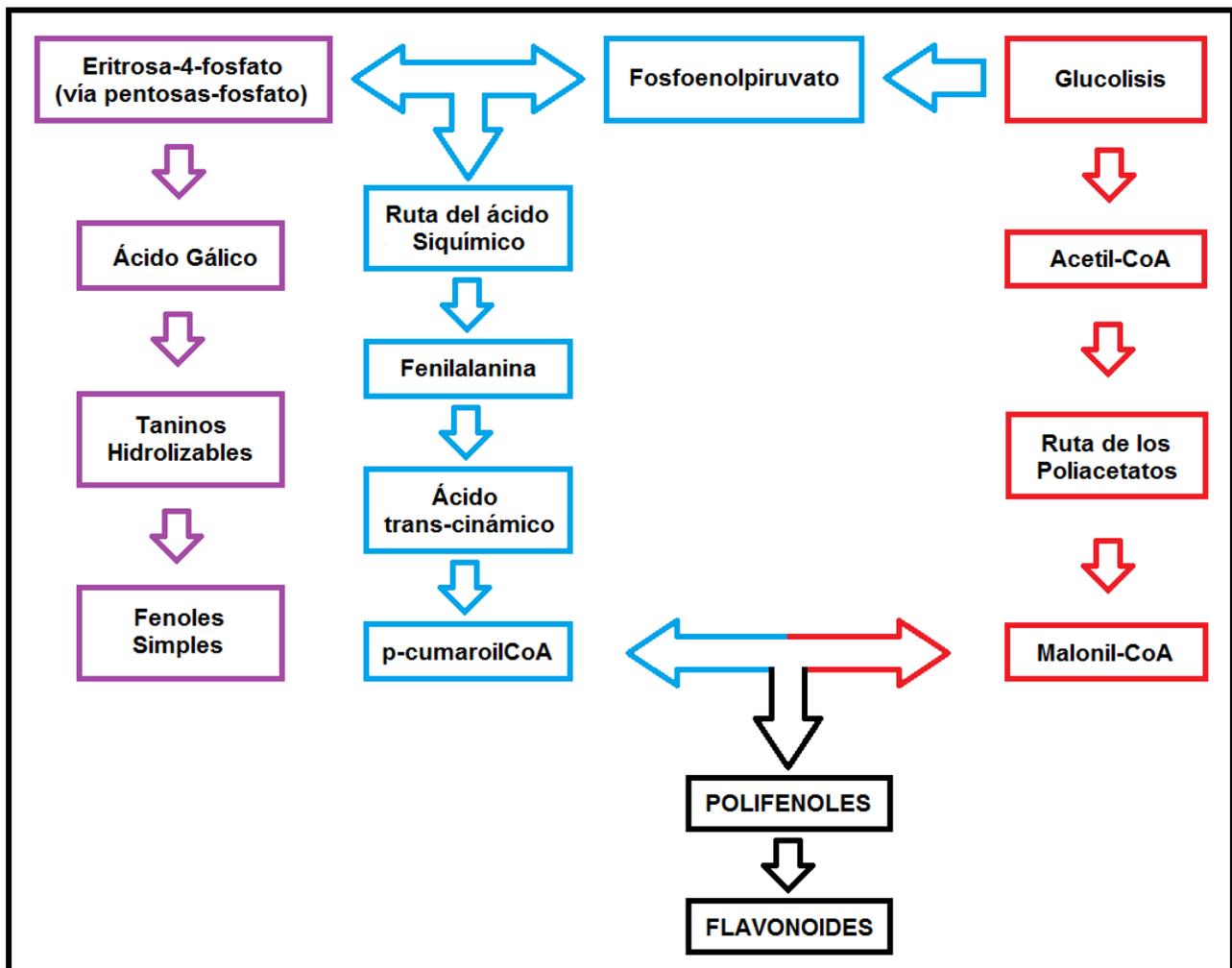


Figura 14. Esquema de la ruta biosintética de los polifenoles en las plantas. CoA = Coenzima A ⁷⁹.

El Dr. Szent-Gyorgi descubrió que los flavonoides favorecen la función de la vitamina C, mejorando su absorción y protegiéndola de la oxidación^{54, 55}. La palabra flavonoide proviene del latín "flavus", que significa "amarillo"⁵⁶. Los flavonoides son compuestos fenólicos diaril-propánica, es decir, su estructura es del tipo C6-C3-C6, con dos anillos aromáticos (bencénicos) unidos entre sí por una cadena de 3 carbonos que pueden formar o no un tercer anillo pirano o pirona (anillos A-C) (Figura 17). De los tres anillos, el A se biosintetiza a través de la ruta de los policétidos, mientras que el anillo B y la unidad C3 proceden de la ruta del ácido shikímico^{59,60}.

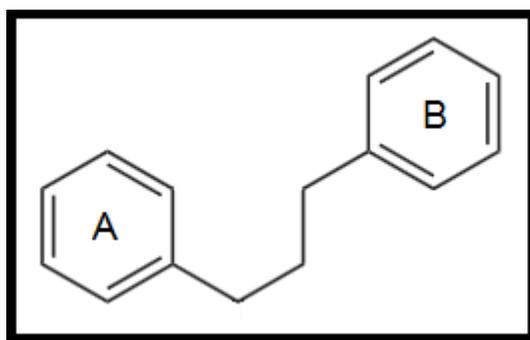


Figura 17. Estructura Básica de los Flavonoides⁵⁵.

Los flavonoides comprenden varias clases de sustancias naturales (pigmentos) que están ampliamente distribuidos en el reino vegetal, mayoritariamente en angiospermas, aunque de forma minoritaria también se encuentran en hongos y algas⁵⁵. Son compuestos necesarios para el desarrollo fisiológico de los vegetales, y se ubican en la membrana del tilacoide de los cloroplastos⁵². Abundan, sobre todo en las partes aéreas jóvenes y más expuestas al sol, como hojas, frutos y flores, debido a que la luz solar favorece su síntesis⁵⁹. Estos compuestos son importantes para la planta, al igual que ocurre con la mayor parte de los metabolitos secundarios, porque además de ser los responsables de la coloración de muchas flores, frutos y hojas, intervienen en la polinización atrayendo a los insectos a sus flores o a los animales para que coman sus frutos con la intención de que se puedan dispersar mejor sus semillas. Estas sustancias además de cambiar de colores y adornar las plantas durante toda su vida, también son la respuesta adaptativa de las plantas para protegerse de la intensa radiación ultravioleta. Las plantas usan flavonoides para filtrar determinadas radiaciones indeseables, lo que permite que un pigmento de color verde llamado clorofila, absorba la longitud de onda adecuada y pueda realizar el proceso bioquímico de la fotosíntesis⁵⁵.

Otras veces, los flavonoides tienen la función de atraer a las presas. Las plantas carnívoras, como las droseras, utilizan antocianinas en sus flores para atraer a los insectos que luego devorarán⁶¹.

2.19. Clasificación De los Flavonoides

Todos los flavonoides son estructuras hidroxiladas en el anillo aromático y, por lo tanto, como se mencionó anteriormente, son compuestos polifenólicos⁵². Para su estudio sistemático los más de 5000 flavonoides naturales se han clasificado en varias clases de acuerdo con las variantes estructurales que presenta la cadena central C3 (Figura 18)⁵⁵.

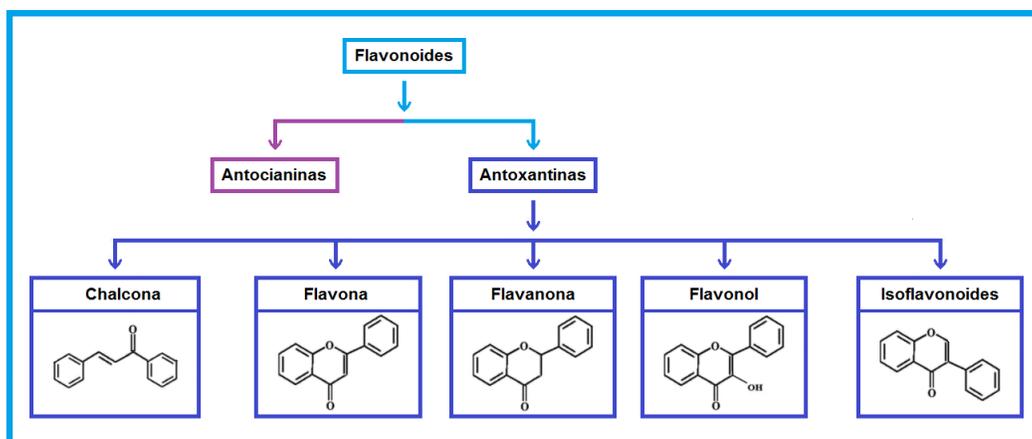


Figura 18. Esquema de los Diferentes Subgrupos de los Flavonoides ^{57,58}.

Existen varios subgrupos de flavonoides. La clasificación de estos compuestos se hace en función del estado de oxidación del anillo heterocíclico (anillo C) y de la posición del anillo B. Dentro de cada familia existen una gran variedad de compuestos, que se diferencian entre sí por el número y la posición de los grupos hidroxilos, y por los distintos grupos funcionales que pueden presentar (metilos, azúcares, ácidos orgánicos) ⁵², ejemplos:

2.19.1. Flavonoles

Se caracterizan por poseer un grupo ceto en el carbono C4 y una insaturación entre los carbonos C2 y C3. Poseen además un grupo hidroxilo adicional en el carbono C3. Representan el grupo más ubicuo de polifenoles presente en los alimentos. La quercetina es el compuesto más representativo. Las principales fuentes de flavonoles son las verduras y las frutas. El té y el vino son también alimentos ricos en flavonoles. La biosíntesis de flavonoles es un proceso fotosintético. Por ello, estos compuestos se localizan principalmente en el tejido externo y aéreo de la planta. La distribución y la concentración de los flavonoles puede ser distinta incluso en frutas procedentes de la misma planta; esto se debe a que la localización de los frutos está condicionada la exposición al sol⁵².

2.19.2. Flavonas

Poseen un grupo ceto en el carbono C4 y una insaturación entre los carbonos C2 y C3. Son los flavonoides menos abundantes en los alimentos. Perejil y apio representan la única fuente comestible de flavonas. La piel de las frutas también posee grandes cantidades de flavonas polimetoxiladas⁵².

2.19.3. Flavanonas

Son análogos de las flavonas con el anillo C saturado. Se glucosilan principalmente por la unión de un disacárido en el carbono C7. Constituyen un grupo minoritario en los alimentos. Las flavanonas aparecen a altas concentraciones en cítricos y en tomates, y también se encuentran en ciertas plantas aromáticas como la menta. Las flavanonas se localizan mayoritariamente en las partes sólidas de la fruta, en particular en el albedo (membranas que separan los segmentos de las frutas). Por ello, su concentración es hasta cinco veces mayor en la fruta que en los zumos⁵².

2.19.4. Isoflavonas

Poseen un anillo bencénico lateral en posición C3. Las isoflavonas poseen grupos hidroxilos en los carbonos C7 y C4', al igual que sucede en la estructura molecular de la hormona estriol (uno de los tres estrógenos mayoritarios junto al estradiol y la estrona). En realidad, las isoflavonas se pueden unir a receptores de estrógenos, y por ello se clasifican como fitoestrógenos. Se pueden presentar como agliconas, o a menudo conjugadas con glucosa, pero son termo-sensibles y pueden hidrolizarse durante su procesamiento industrial y durante su conservación. Se presentan casi exclusivamente en plantas leguminosas, siendo la soja y sus derivados la principal fuente de isoflavonas⁵².

2.19.5. Antocianidinas

Son compuestos hidrosolubles, y constituyen uno de los grupos más importantes de pigmentos vegetales. Se encuentran principalmente como heterósidos con los tres anillos de su estructura conjugados. La glucosilación ocurre principalmente en la posición 3 del anillo C o en las posiciones 5 y 7 del anillo A. También es posible la glucosilación de las posiciones 3', 4' y 5' del anillo B, aunque esta glucosilación aparece con menos frecuencia.

Las antocianidinas están ampliamente distribuidas en la dieta humana. Se pueden encontrar en ciertas variedades de cereales, en el vino tinto y en algunos vegetales, aunque aparecen mayoritariamente en las frutas⁵².

2.19.6. Flavanoles

Poseen el anillo C saturado y un grupo hidroxilo en el carbono C3. Pueden aparecer como monómeros o como polímeros con distintos grados de polimerización. A diferencia de otros grupos de flavonoides, sus combinaciones de tipo heterosídico (entre el grupo reductor del azúcar y un grupo tiol) son poco habituales. Los flavanoles más representativos en los alimentos son de tipo flavan-3-ol, y estos pueden aparecer como monómeros (catequinas), como dímeros condensados entre sí y como oligómeros (procianidinas), o bien pueden aparecer como polímeros (proantocianidinas o taninos condensados). Epicatequina y catequina son los compuestos mayoritarios en frutas. Las catequinas también se encuentran en el vino y en el chocolate, que son las fuentes mayoritarias. En cambio, galocatequina, epigalocatequina y epigalocatequina galato aparecen principalmente en el té. Es bastante complejo valorar el contenido de proantocianidinas en los alimentos, debido a que poseen un amplio rango estructural y pesos moleculares muy variables. Los datos mayoritarios disponibles, en cuanto a la caracterización de estos compuestos, hacen referencia principalmente a dímeros y trímeros de catequinas, que representan las formas mayoritarias. Aun así, en los últimos años, se están desarrollando nuevas técnicas de análisis, que permitan una mejor caracterización de todos estos compuestos⁵².

2.20. Alimentos Ricos en Flavonoides

El organismo humano no puede producir estas sustancias, por lo cual debemos obtenerlos de la alimentación o en forma de suplementos farmacológicos. En nuestra cultura nutricional contamos con alimentos ricos en flavonoides tales como: la fresa, naranja ácida, uvas negras, toronjas, limón, cerezas, ciruelas, manzanas, moras, frambuesas, arándanos, espinacas, hinojo, remolacha, pimientos, cebolla, aguacate, berenjena, plátano, brócoli puerros, rábanos, tofu, coliflor, cacao, chocolate, té en general, vino tinto, semillas de soja, frijol, guisante de jardín, semillas del frijol azuki y del eneldo, albahaca, tomillo, fruta de Cayena, cilantro, menta, manzanilla, semillas de anís, nueces y remolacha, entre una lista bastante extensa⁶².

Entre los alimentos con alto contenido en polifenoles se encuentran el cacao (*Theobroma cacao*), la uva (*Vitis vinifera*), el té (*Camelia sinensis*), la manzana (*Malus domestica*) y diversas bayas. Así pues, las fuentes mayoritarias de polifenoles en la dieta humana son principalmente las frutas, el té, el vino y el chocolate⁵².

2.21. Historia del Chocolate

El cacao es la almendra con la que se prepara el chocolate, domesticado en las tierras bajas y presente en contextos arqueológicos al menos desde hace 4000 años. Versátil en sus características, el cacao tuvo una importancia simbólica, social, religiosa, política y económica en las culturas del México prehispánico. Dice la leyenda que el cacao fue un regalo que el dios Quetzalcóatl hizo a los hombres. Los gobernantes y guerreros de élite de la antigua Mesoamérica asociaron al cacao como: “bebida de dioses” lo que dio origen al nombre científico *theobroma cacao*⁶³. Pero sus empleos y difusión también se debían a las funciones que cumplía, como: bálsamo, ofrenda, tributo, moneda, alimento energético, poderoso artículo de intercambio, objeto ritual, símbolo de fertilidad, pócima provocadora de pasiones, emblema de poder y prestigio social⁶⁴.

Uno de los regalos que los antiguos pobladores de América dieron a Cristóbal Colón y su tripulación, fueron unas pequeñas nueces de forma ovalada y color marrón. Con ellas se elaboraba el “**xocolatl**” una bebida de fuerte sabor que producía una gran energía y vitalidad. Durante los años de conquista la bebida del “**Xocolatl Azteca**” era apreciada no solo por su sabor, sino por su valor estimulante. Como tal, en una de sus cartas, Hernán Cortés se la describió a Carlos V asegurando que bastaba con una taza de esa bebida indígena, para sostener las fuerzas de un soldado durante todo un día de marcha. Los nobles mexicanos hacían cocer el cacao con agua y para endulzarlo, le agregaban miel silvestre o jugo dulce de arce, aromatizándolo con un poco de vainilla.

La gente sencilla le agregaba atole de maíz para hacerlo nutritivo⁶⁵. El chocolate llegó rápidamente al viejo continente y aunque no fue bien recibido por ingleses y franceses, poco a poco fue adquiriendo fama en todo Europa, en donde se empezaron a hacer diferentes preparaciones. En nuestro país, a pesar de la gran aceptación de este producto, no fue sino hasta 1853 que se instaló la primera maquinaria para fabricarlo. Sin embargo, fue hasta la revolución Mexicana que el chocolate se popularizó, pues antes era consumido principalmente por los aristócratas⁶³.

2.22. Árbol del Cacao

Es una planta de tipo tropical que crece en climas cálidos y húmedos, por lo general es un árbol pequeño, entre 4 y 8 metros de alto, aunque si recibe sombra de árboles grandes, puede alcanzar hasta los 10 metros de alto. La madera es de color claro, casi blanco, y la corteza es delgada, de color café. El cacao pertenece al género *Theobroma* de la familia de las bitneriáceas (Figura 19). Se conocen 18 especies distintas, que se distinguen por el mayor o menor crecimiento de la planta, la forma de sus hojas, el volumen y coloración del fruto. Las semillas también varían en forma, tamaño y cualidades nutritivas.



Figura 19. Árbol del Cacao ⁶³.

Las flores del cacao, son pequeñas y abundantes, de color amarillo rojizo que al marchitarse dejan un embrión con el fruto que luego crece, y se convierte en una especie de baya carnosa en todo su espesor. El grano del cacao, es una semilla encerrada en su fruto, similar al pepino (Figura 20).



Figura 20. Fruto del Cacao ⁶³.

El cacaotero tiene una longevidad de 40 años. Un único árbol puede llegar a dar 100,000 flores a lo largo de un año. Estas flores tienen una vida tan corta de apenas 48 horas. Una mazorca de cacao siempre contiene un número par de semillas o habas. El fruto puede alcanzar una longitud de 15 a 25 centímetros. Al abrir el fruto, aparecen acomodadas en la parte carnosa, entre 30 y 40 semillas del cacao, que al lavarse y secarse, son empleadas para preparar una bebida llamada “Chocolate”⁶⁵. Estudios recientes han demostrado que el cacao es una fuente rica de flavanoles los cuales están presentes en la naturaleza en forma de monómeros (catequinas) y de polímeros (proantocianidinas o taninos condensados). A diferencia del resto de los flavonoides, los flavanoles son los únicos que no aparecen en forma glucosilada en los alimentos y se distinguen dos clases, las Proantocianidinas y las Catequinas⁶⁵. En el cacao los flavanoles, están principalmente en forma de epicatequinas, catequinas y procianidinas. En la mayoría de las plantas medicinales y alimentos de tipo vegetal, la exposición a la luz, el clima (exposición al sol, precipitaciones, etc.) o factores agronómicos (diferentes tipos de cultivos, producción de fruta por el árbol, etc.) son principales condicionantes para determinar el contenido de la mayoría de los polifenoles.

El grado de conservación puede también determinar el contenido en polifenoles fácilmente oxidables, permitiendo la formación de más o menos sustancias polimerizadas que afectan al color y a las características organolépticas de los alimentos. El contenido de polifenoles en los alimentos está también influenciado por los métodos culinarios de preparación; así, el contenido de polifenoles de las frutas y de los vegetales pueden disminuir por el simple hecho de pelar estos alimentos, ya que estas sustancias están a menudo presentes en altas concentraciones en las partes externas de los mismos. La cocción de los alimentos puede disminuir hasta un 75% el contenido inicial de polifenoles. El contenido cualitativo y cuantitativo de polifenoles es diferente en cada especie vegetal⁵².

2.23. Propiedades Físicas y Medicinales de los Flavonoides

Las propiedades físicas dependen de la clase de flavonoide considerado y su forma (libre, glucósido o sulfato). Las flavonas, flavanoles y auronas, debido al sistema conjugado son compuestos sólidos con colores que comprenden desde el amarillo muy tenue hasta el rojo. Las antocianidinas son de colores rojo intenso, morado, violeta y azul. Las flavanonas y flavanoles debido al carbono quiral C-2 presentan el fenómeno de la rotación óptica.

Los glucósidos son en general sólidos amorfos, mientras que las agliconas y los altamente metoxilados son cristalinos. La solubilidad depende de la forma en que se encuentren y el número y clase de sustituyentes presentes. Los glucósidos, las antocianidinas y los sulfatos son solubles en agua y alcohol.

Las agliconas flavonoides altamente hidroxiladas son solubles en alcohol (etanol, metanol y n-butanol), mientras que las poco hidroxiladas lo son en solventes como éter etílico, acetato de etilo y acetona. Las agliconas flavonoides altamente metoxiladas son solubles en solventes menos polares como el éter de petróleo y el cloroformo. Los flavonoides con hidroxilos fenólicos son solubles en soluciones alcalinas, pero algunos altamente hidroxilados se descomponen por acción de las bases fuertes, un hecho que permite reconocerlos y diferenciarlos de otros, y que hace años se utilizó para su elucidación estructural. Los glucósidos flavonoides son sólidos amorfos que se funden con descomposición, mientras que las correspondientes agliconas son sólidos cristalinos⁵⁵.

Se han descubierto más de 5000 flavonoides, Todos ellos parecen tener un papel muy importante en la alimentación humana, dado que presentan propiedades medicinales muy interesantes. Los flavonoides sólo se encuentran en las plantas o vegetales, por lo que para tener estos componentes debemos llevar una dieta rica en vegetales. Entre estas propiedades de los flavonoides podríamos mencionar:

2.23.1. Propiedades Antioxidantes: La mayoría de ellos, y especialmente las catequinas del té verde, tienen una alta capacidad para neutralizar los radicales libres e impedir los perniciosos efectos que estos ejercen en la salud de nuestro organismo.

2.23.2. Propiedades Anticancerosas: Muchos flavonoides se han mostrado tremendamente eficaces en el tratamiento del cáncer. Se sabe que muchos inhiben el crecimiento de las células cancerosas.

2.23.3. Propiedades Cardiotónicas: Tienen un efecto tónico sobre el corazón, potenciando el músculo cardíaco y mejorando la circulación. Atribuidas fundamentalmente al flavonoide quercetina, presente en los ajos y las cebollas, aunque aparece en menor intensidad en otros como la genisteína y la luteolina.

2.23.4. Fragilidad Capilar: Mejoran la resistencia de los capilares y favorecen el que estos no se rompan, por lo que resultan adecuados para prevenir el sangrado. Entre todos los flavonoides tendríamos que mencionar por orden de importancia la hesperidina, la rutina y la quercetina. También destaca el resveratrol que se encuentra en la uva y el vino.

2.23.5. Propiedades Antitrombóticas: La capacidad de estos componentes para impedir la formación de trombos en los vasos sanguíneos posibilita una mejor circulación y una prevención de muchas enfermedades cardiovasculares.

2.23.6. Disminución del Colesterol: Su capacidad para disminuir el colesterol y los triglicéridos supone una ventaja en la salud del aparato circulatorio. Los alimentos vegetales ricos en flavonoides convienen mucho cuando hay enfermedades de este tipo, diabetes y obesidad.

2.23.7. Protección del Hígado: Algunos flavonoides han demostrado su poder protector contra las enfermedades del hígado. Por ejemplo, la silimarina del cardo mariano, ha demostrado experimentalmente que es capaz de proteger y regenerar al hígado enfermo (hepatitis). Este mismo flavonoide, junto con la apigenina y la quercetina, son muy útiles para eliminar ciertas dolencias digestivas relacionadas con el hígado, como la sensación de plenitud o los vómitos.

2.23.8. Protección del Estómago: Ciertos flavonoides, como la quercetina, la rutina y el camferol, tienen propiedades antiulcéricas al proteger la mucosa gástrica.

2.23.9. Antiinflamatorias y Analgésicas: La hesperidina y otros flavonoides, por sus propiedades antiinflamatorias y analgésicas, se han utilizado para el tratamiento de ciertas enfermedades como la artritis, bronquitis y otras dolencias inflamatorias.

2.23.10. Antimicrobianas: La mayoría de los flavonoides, han demostrado tener propiedades antivirales, antifúngicas y antibacterianas. Sin embargo, es necesario realizar más investigaciones al respecto⁶⁰.

2.24. Epicatequina

Es un tipo de flavonoide que pertenece al grupo de las catequinas (epicatequina: $C_{15}H_{14}O_6$) el cuál se encuentra presente en diversos productos comestibles, principalmente en vegetales y/o frutos, como la manzana, la pera, y la uva negra, aunque es particularmente abundante en el té verde (hasta 800 mg/L) y en el cacao (hasta 600 mg/L) ^{66, 67, 68, 69}. La Catequina y Epicatequina poseen 2 anillos de fenilo (A y B) unidos a través de un dihidropirano heterocíclico (C), con un grupo hidroxilo en el Carbono 3, la molécula presenta dos centros quirales en el Carbono 2 y 3 (Figura 21). Por lo que tienen cuatro diastereoisómeros.

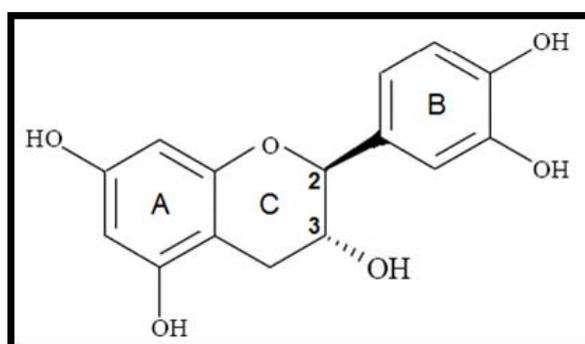


Figura 21. Estructura Base de la Catequina y la Epicatequina ⁶⁸.

Dos de los isómeros en posición trans son llamados Catequina y los otros dos están en configuración cis, llamados Epicatequina (Figura 22 y 23).

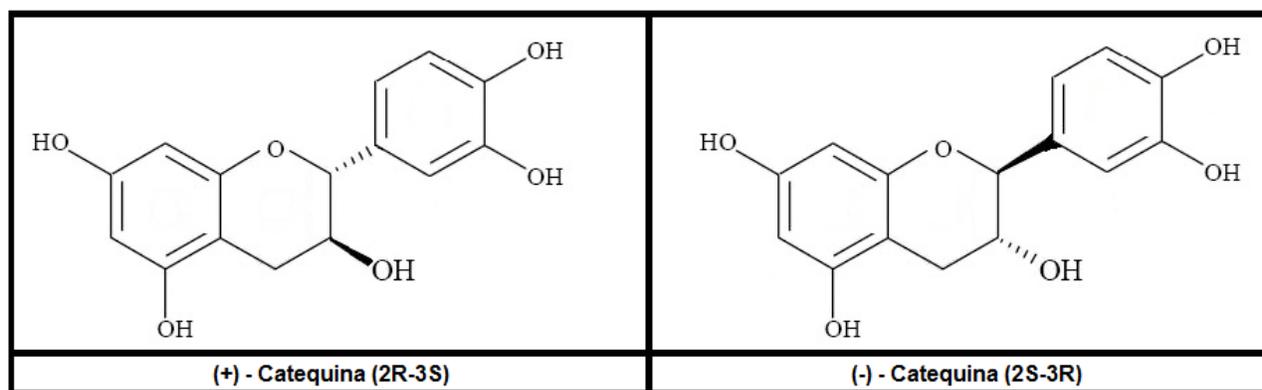


Figura 22. Isómeros de Catequina ⁶⁸.

El isómero de la Catequina más común es la (+)-Catequina y el isómero de Epicatequina más común es (-)-Epicatequina.

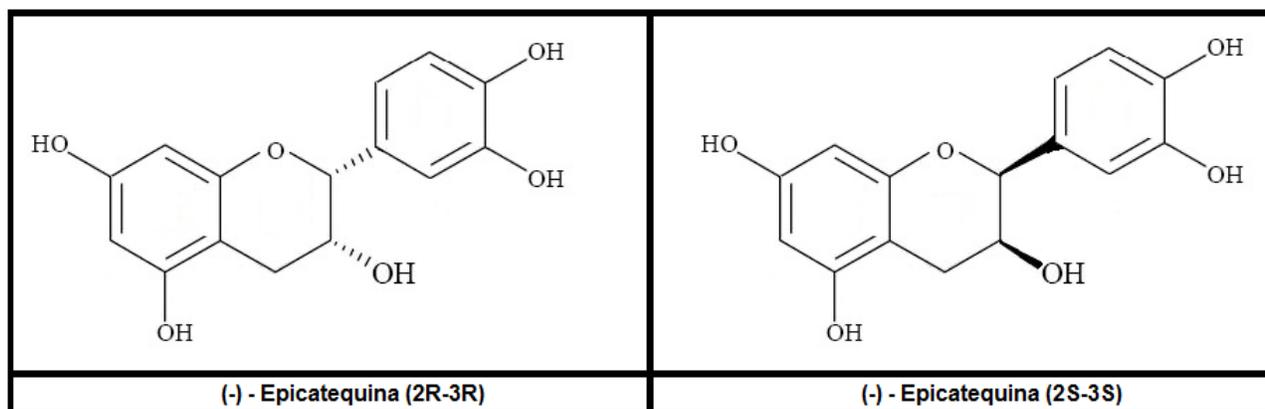


Figura 23. Isómeros de Epicatequina ⁶⁸.

Existe gran interés por la investigación de los flavonoides en los alimentos, debido a que estos componentes presentan efectos benéficos en la salud; la presencia de los flavonoides está directamente asociada con la dietética de las personas⁶⁹. Las frutas y verduras son las fuentes principales de flavonoides, donde también se incluyen el té y el vino⁷⁰.

2.25. Metabolismo de los Polifenoles

Es importante conocer la cantidad total de polifenoles que están presentes en un alimento o ingrediente alimenticio, pero, teniendo en cuenta la definición de biodisponibilidad (cantidad y velocidad a la cual el principio activo es absorbido y que queda disponible en el sitio de acción⁷¹), es más importante conocer la cantidad de polifenoles que se encuentran biodisponibles, dentro del contenido total de un alimento. Los principales objetivos de los estudios de biodisponibilidad son, en realidad, determinar cuáles son los polifenoles que mejor se absorben, valorar qué polifenoles dan lugar a metabolitos activos, y caracterizar la actividad biológica de estos metabolitos.

El concepto de biodisponibilidad cobra una gran importancia, dado que los polifenoles más abundantes no siempre son los más activos en el organismo, ya sea porque tienen una menor actividad intrínseca, su absorción en el intestino es baja, son altamente metabolizados o se excretan rápidamente. En general, el metabolismo de los polifenoles se produce a través de una secuencia de reacciones común para todos ellos, que es similar a la detoxificación metabólica que sufren muchos xenobióticos para reducir su potencial efecto citotóxico, incrementar su hidrofiliidad y facilitar su eliminación urinaria o biliar. La mayoría de los polifenoles están presentes en los alimentos como ésteres, glucósidos o polímeros, formas que no se pueden absorber.

En realidad, en los alimentos, prácticamente todos los flavonoides, excepto los flavanoles, presentan formas glucosiladas. La mayoría de los glucósidos resisten probablemente la hidrólisis ácida del estómago y llegan intactos al intestino. Estas sustancias deben hidrolizarse por enzimas intestinales como la β -glucosidasa y la lactasa-florizina hidrolasa, o deben ser degradadas por la microflora del colon antes de poder asimilarse⁵². Varios estudios llevados a cabo en animales de experimentación han demostrado que determinados polifenoles como la quercetina, daidzeína o genisteína, pero no sus glucósidos, pueden ser absorbidos directamente en el estómago al igual que algunas antocianidinas o ácidos fenólicos como el ácido clorogénico. Sin embargo, el resto de los polifenoles, que en su mayoría resisten la hidrólisis ácida del estómago, llegan intactos al intestino delgado donde sólo las agliconas, algunos ácidos hidroxicinámicos conjugados y unos pocos glucósidos pueden ser absorbidos directamente.

Por lo tanto, el estado de glucosilación de los polifenoles influye sobre su absorción en el intestino, ya que los polifenoles glucosilados se absorben más fácilmente que los que poseen otro tipo de glucosilación, como los conjugados con las moléculas de ramnosa, que alcanzan el colon antes de ser absorbidos y son hidrolizados por las enzimas de la microflora colónica⁶⁶. Durante el proceso de absorción, los polifenoles sufren, por tanto, diversas modificaciones. De hecho, estos compuestos se conjugan en las células del intestino y posteriormente sufren procesos de metilación, sulfatación y/o glucuronidación en el hígado.

Como consecuencia de estos procesos, las formas que se encuentran en el plasma y en los tejidos son muy distintas de las que están presentes en los alimentos, y esto dificulta la tarea de identificación de los metabolitos y la evaluación de su actividad biológica. La estructura química de los polifenoles, más que su concentración, determina el rango de absorción y la naturaleza de los metabolitos circulantes en el plasma. Los metabolitos circulantes se pueden unir a proteínas del plasma; principalmente a la albúmina. La afinidad de los polifenoles a la albúmina varía en función de su estructura química, además de ésta, su capacidad de unión a ella, puede determinar la presencia del metabolito en células y tejidos. Estudios recientes han demostrado que la unión de los flavonoides a la albúmina sérica, puede modularse por componentes del plasma. Más concretamente, se ha demostrado la posible participación de los ácidos grasos, en la modulación por inhibición alostérica, en la unión de los flavonoides a la albúmina en humanos, y de alguna forma esta inhibición podría interferir en sus efectos biológicos.

La concentración de polifenoles en el plasma es muy variable; depende principalmente de su estructura química y de su fuente de origen, y es necesario ingerir estos compuestos de forma reiterada a lo largo del tiempo para mantener sus concentraciones elevadas en el plasma. La concentración de los flavonoides intactos en el plasma no suele ser superior a 1 μM , mientras que en el caso de los metabolitos es de aproximadamente 10 μM ⁵². Estudios realizados en humanos han señalado que la concentración de polifenoles en plasma no está directamente relacionada con la concentración de polifenoles en los tejidos. Los polifenoles que llegan a la sangre y a los tejidos son diferentes a los que se localizan originalmente en los alimentos.

Diversos estudios in vivo (humanos y animales) han sugerido que sólo el 5% del total de polifenoles ingeridos diariamente son absorbidos en el duodeno, y de este porcentaje, sólo un 5%, principalmente flavanoles, alcanzan la circulación sanguínea sin cambios en su estructura. Los polifenoles, se encuentran principalmente en aquellos tejidos donde se han metabolizado (tejido hepático, estomacal, intestinal, colónico y nefrítico), pero además también pueden acumularse en tejidos dianas específicos, como el tejido pulmonar, el pancreático, el cerebral, el cardíaco y el tejido esplénico⁶⁶. El resto del total de los polifenoles (95%) que no se pueden absorberse en el intestino delgado, alcanzan el colon, y allí la microflora los fermentan dando lugar a metabolitos microbianos que se absorben y aparecen como derivados conjugados en el plasma^{52, 66}.

La microflora del colon, también hidroliza glucósidos en agliconas y las metaboliza masivamente en distintos ácidos aromáticos, en otras ocasiones genera metabolitos activos específicos, como el equol, enterolactona y enterodiol. El equol presenta propiedades fitoestrogénicas que son aún mayores, que los compuestos originales de la isoflavona, la enterolactona y el enterodiol. Finalmente una vez absorbidos, los polifenoles están sujetos a procesos de detoxificación metabólica, que incluyen distintas modificaciones como metilación, sulfatación y glucuronidación, éstos aumentan la hidrofiliidad del compuesto y facilitan su excreción por vía urinaria o biliar. Diversos estudios han demostrado que el contenido de polifenoles no modificados presentes en la orina, varía según se trate de unos compuestos fenólicos u otros. La cantidad total de metabolitos excretados en orina puede correlacionarse, sin embargo, con la máxima concentración en el plasma. Las concentraciones halladas en la orina son de 0,5-6% para algunas catequinas del té, de 2-10% para las catequinas del vino y de hasta un 30% para la epicatequina del cacao⁵².

3. Justificación

Las Enfermedades Cardiovasculares son la primera causa de muerte en los países desarrollados incluyendo nuestro país México. El infarto Agudo al miocardio aporta más del 80% de los casos de enfermedad cardíaca isquémica y es la de mayor intensidad. En la actualidad se sabe que el consumo antioxidantes provenientes de alimentos de origen vegetal en la dieta humana ha tenido gran importancia ya que dichos compuestos se han relacionado con una serie de efectos benéficos para la salud, como la prevención de las ECV. El chocolate negro no industrializado contiene una alta cantidad de flavonoides, por lo cual su consumo se asocia a una protección de la salud cardiovascular y a otras patologías. Se ha demostrado que los flavanoles como la epicatequina ejercen poderosos efectos antioxidantes al inhibir la oxidación de las LDL, además de producir una disminución de la agregación plaquetaria y de la presión arterial. Hasta la fecha no se han encontrado efectos adversos o problemas asociados al consumo de monómeros de epicatequina. El presente trabajo, pretende actualizar el conocimiento sobre el chocolate y sus beneficios en la salud, estudiando el efecto protector en el corazón de uno de sus metabolitos: la epicatequina.

4. Objetivo General

Comprobar las propiedades farmacológicas del flavonoide epicatequina frente a la isquemia cardíaca, estableciendo la concentración mínima necesaria para determinar si este metabolito disminuye el tamaño del infarto agudo al miocardio (IAM), a través de una relación dosis-concentración o respuesta.

5. Hipótesis

Si la epicatequina tiene un efecto anti-isquémico entonces su administración en forma gradual mostrará un efecto terapéutico en el daño al miocardio.

6. Metodología

6.1. Animales y Procedimientos Quirúrgicos

Los experimentos se llevaron a cabo en modelo Langerdof y se utilizaron 5 lotes de ratas Wistar (machos y hembras jóvenes), entre 250-350 gr de peso, contando con la autorización del Comité de Ética Institucional.

Las ratas se pesaron y anestesiaron administrando 0.3 ml de Pentobarbital Monosódico (60 mg/kg) por vía intraperitoneal. Con ayuda de una lámpara se localizó la tráquea y se intubó la rata con una cánula del 16, posteriormente se conectó a un ventilador de roedores (Harvard Rodent Ventilator, Modelo 683, Holliston, MA). Las ratas se ventilaron con aire ambiental a 40-50 respiraciones por min, con un volumen de corrientes de 1ml/100 mg peso. La temperatura corporal se mantuvo constante a 37°C mediante el uso de una almohadilla de calefacción con temperatura regulable. Se localizó, limpio y rasuró la zona de la vena femoral izquierda. Se realizó una pequeña incisión en la piel de la Rata y con ayuda de unas pinzas se localizó la vena femoral. Con ayuda de unos pequeños hilos se tensó esta vena y se realizó la cateterización. Se administró el tratamiento de epicatequina por medio de una bomba peristáltica a una velocidad de flujo de 105µl/seg.

Esperar por 10 min y preparar el material para realizar la oclusión. Se localizó, limpio y se rasuró la zona del quinto espacio intercostal izquierdo, posteriormente se hizo una pequeña incisión en la piel y con ayuda de unas pinzas se separaron los músculos hasta llegar a la costilla. Se penetró con cuidado el quinto espacio intercostal y se retrajeron suavemente los músculos y las costillas por medio de unos separadores. Se realizó una pericardiotomía para exponer el corazón y localizar la arteria descendente izquierda. Se introdujo la aguja de la sutura en el miocardio por debajo de la primera rama de la arteria coronaria descendente izquierda. Se sacó la punta de la aguja por el otro lado de la arteria coronaria izquierda y se jaló la sutura hasta dejar una parte del extremo. Se cortó un pedazo de 0.5 cm de tubo de teflón de 1 mm de diámetro y se colocó entre los dos puntos de la sutura. Se amarraron firmemente los extremos de la sutura formando un nudo que permita una oclusión reversible. Se sometió el corazón a 60 min de isquemia y posteriormente se retiró el tubo de teflón permitiendo una reperusión por 120 min. Se removieron los ganchos separadores para permitir el cierre de las costillas y se suturó la incisión en la piel.

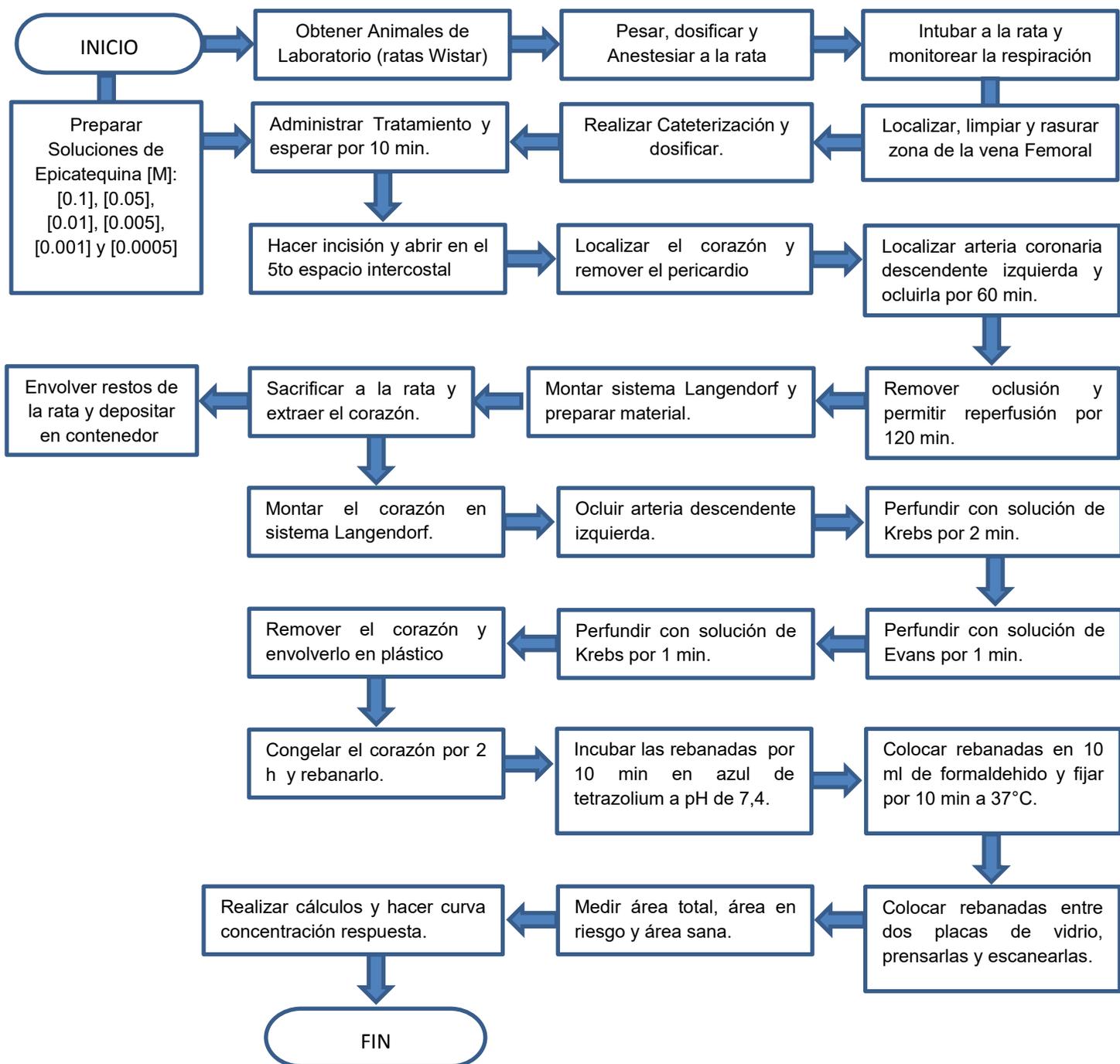
Se sacrificó al animal de laboratorio, inmediatamente se realizó una esternotomía y se extrajo rápidamente el corazón de la cavidad torácica. Se montó rápidamente y se sujetó con cuidado el corazón extraído en un sistema Langendorf. Se volvió a colocar el tubo de teflón en el nudo de la oclusión y se perfundió por 2 min una solución de Krebs por medio de una bomba de infusión peristáltica a un flujo constante de 1 ml/min. Posteriormente se perfundió el corazón por 1 min con azul de Evans [0.25%] y finalmente se perfundió por 1 min con solución de Krebs. El corazón se desmontó del sistema Langendorf, y enseguida se envolvió en un cuadrado de papel plástico y se congeló en un refrigerador a -4°C por 2 h. Se colocó el corazón congelado en un molde especial y con ayuda de unas cuchillas especiales se cortó en rebanadas de aproximadamente 2 mm, desde la base hasta la punta del corazón. Las rebanadas se incubaron por 10 min a 37°C en 10 ml de Azul de Tetrazolium [1%] con tampón de PBS, ajustado a un pH de 7,4.

Se retiraron las rebanadas del Azul de Tetrazolium y se colocaron en otro recipiente con 10 ml de solución de formaldehído al 10% durante 10 min a una temperatura de 37°C . Se retiraron las rebanadas del fijador y se acomodaron las rebanadas entre dos placas de vidrio separadas por cuatro cuñas de 2 mm en las esquinas.

Se colocaron abrazaderas de resorte en los cuatro lados de las placas y se prensaron las placas de vidrio aplastando las rebanadas a un grosor uniforme de 2 mm. Se escanearon las placas de vidrio con los cortes por ambos lados a una resolución de 1200 ppm. Se ejecutó el programa **MOTICAM PLUS 2.0** y se calibraron las reglas. Posteriormente se seleccionaron las unidades de Área en mm^2 . Se seleccionó la herramienta de polígono y se configuró aumento de la lupa a 1x. Se midió el Área total de cada rebanada por los dos lados. Se identificó y midió por ambos lados el Área Infartada (Color Blanco y/o Amarillo), el Área Sana (Color Rojo) y los espacios ventriculares mediante planimetría con la herramienta de polígono del programa **MOTICAM PLUS 2.0**.

El Área en riesgo se expresó como porcentaje del volumen de los ventrículos, mientras que el Área infartada se expresó como porcentaje del volumen del Área en riesgo. De los datos obtenidos se calculó con el programa **EXCEL** la media, la desviación estándar y la varianza. Los resultados obtenidos se graficaron en un histograma de frecuencias y posteriormente se realizó e interpretó la Curva Concentración Respuesta.

6.2. Diagrama de Flujo



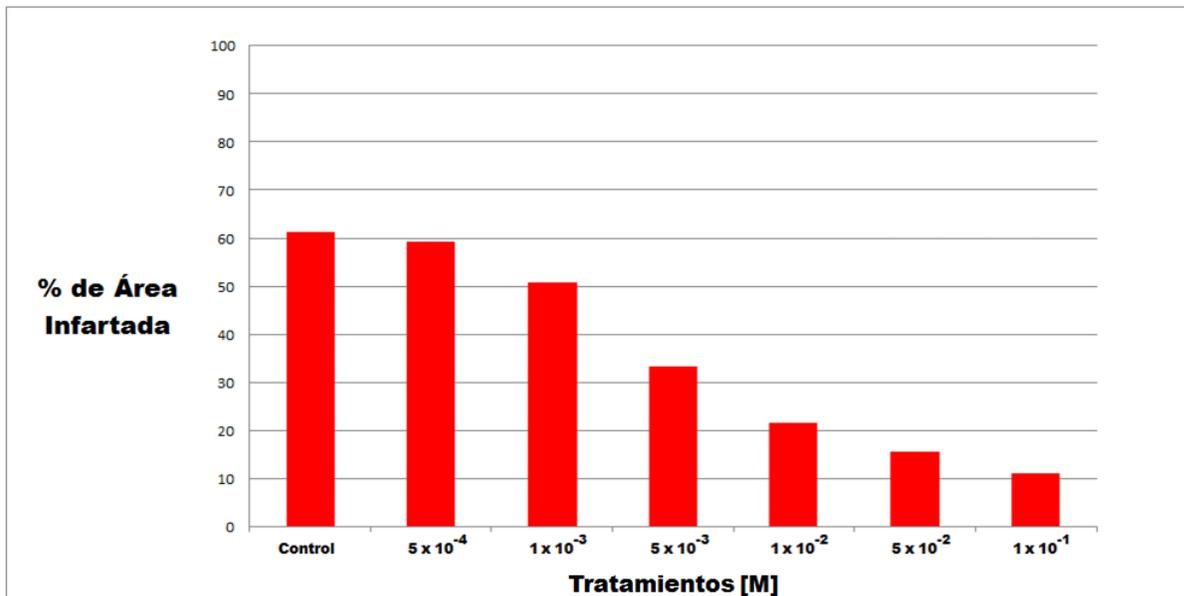
7. Resultados

Porcentaje de Área infartada

Tratamiento	Compuesto	% de Daño	[M]
1	Epicatequina	11.04	1×10^{-1}
2	Epicatequina	15.60	5×10^{-2}
3	Epicatequina	21.64	1×10^{-2}
4	Epicatequina	33.22	5×10^{-3}
5	Epicatequina	50.67	1×10^{-3}
6	Epicatequina	59.15	5×10^{-4}
Control	DMSO	61.17	-----
Blanco	-----	41.69	----

Tabla No. 3: Porcentaje del área infartada de los diferentes lotes y concentración del tratamiento utilizada en los diferentes compuestos.

Área Infartada del Corazón de las Ratas Control y con Epicatequina



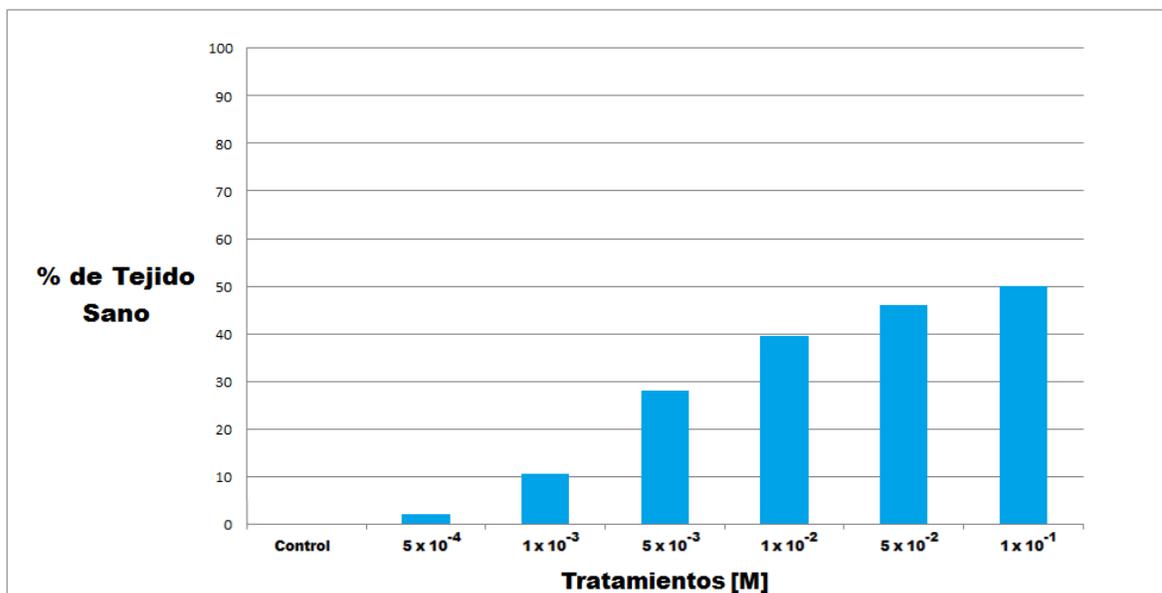
Gráfica 1: En esta gráfica podemos observar que el grupo el cual fungió como control (7) al cual se le administró únicamente DMSO y posteriormente también se le indujo el infarto, presentó la mayor área con daño en comparación con las diferentes concentraciones de epicatequina (1-6) y el blanco ver tabla 3.

Porcentaje del Tejido Sano de acuerdo a la concentración de epicatequina

Concentración de Epicatequina [M]	% de Tejido Sano
5×10^{-4}	2.02
1×10^{-3}	10.5
5×10^{-3}	27.95
1×10^{-2}	39.53
5×10^{-2}	46.08
1×10^{-1}	50.13

Tabla 4: Porcentaje de Tejido Sano de los diferentes lotes y concentraciones utilizadas en los diferentes tratamientos.

Área del Tejido Sano del Corazón de las Ratas Control y con Epicatequina



Gráfica 2: En esta gráfica podemos observar que el grupo de las diferentes concentraciones de epicatequina en particular el grupo 6, presentó la mayor área de tejido sano en comparación con el grupo control (7) al cual se le administró únicamente DMSO y posteriormente se le indujo el infarto ver tabla 4.

Corazones Teñidos

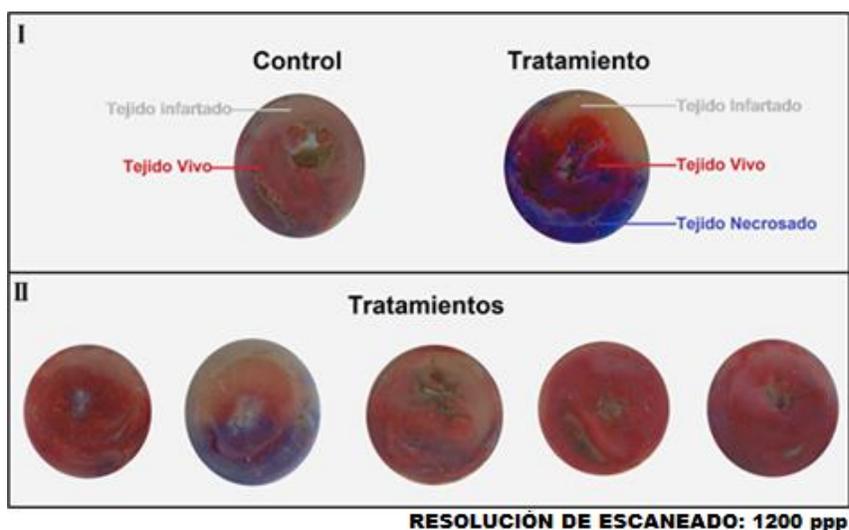
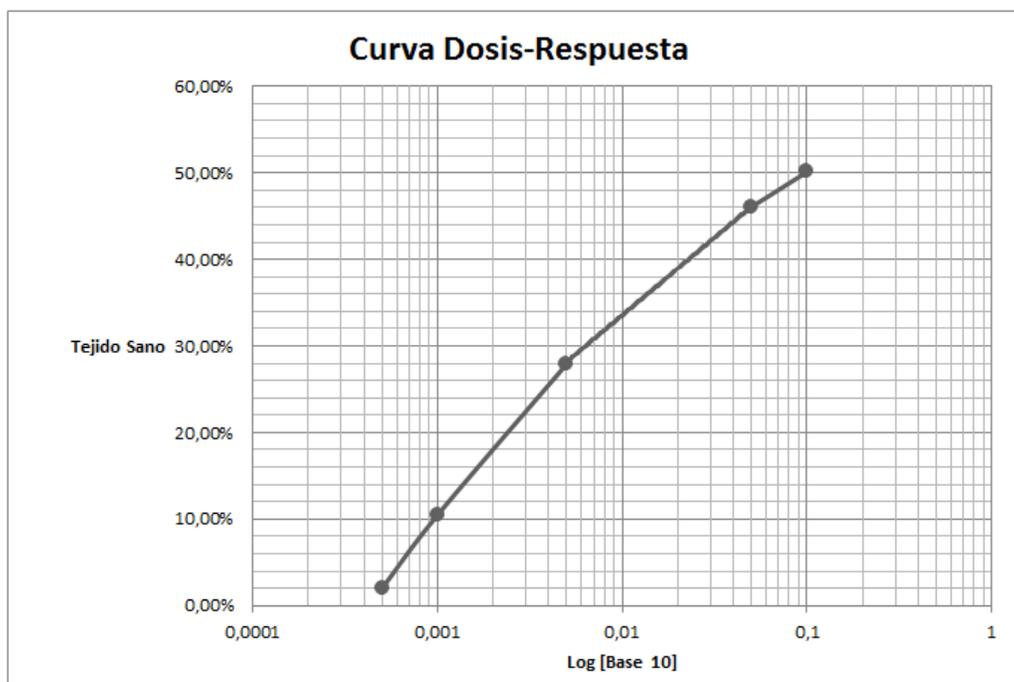


Figura 24. Imágenes de una fracción del corazón del grupo control con los tratamientos, teñidos de Azul de Tetrazolium y Azul de Evans. Como resultado de este procedimiento, la parte no isquémica (necrosada) del ventrículo izquierdo se tiñó de color azul oscuro, el tejido viable dentro del Área en riesgo se tiñó de color rojo brillante, mientras que el tejido infartado se tornó de color amarillo claro. En la parte inferior se puede observar una fracción del corazón de los tratamientos que después de ser sometidos al proceso de isquemia reperusión, disminuyó el área en riesgo.



Gráfica 3. En esta gráfica se observa que el efecto producido por la epicatequina en la reducción del área infartada en el corazón disminuye en forma dosis dependiente.

8. Discusión

Las enfermedades cardiovasculares representan la primera causa de muerte en el mundo y es reconocida hoy como una verdadera epidemia por sus consecuencias sociales y económicas, especialmente en países de ingresos medio y bajo. Según la Organización Mundial de la Salud, la mortalidad por esta causa pasará de 17,1 millones en el 2004 a 23,4 millones en el 2030. Entre estas enfermedades se encuentra el infarto al miocardio⁷². En este estudio, la obtención de los corazones infartados (41%) se debe a la interrupción mecánica del flujo sanguíneo de una de las arterias que alimentan a éstos (oclusión), durante el infarto agudo al miocardio, la isquemia puede desencadenar una serie de fenómenos irreversibles de daño y/o muerte celular.

La restauración del flujo sanguíneo al miocardio isquémico (reperusión) induce la activación de metabolismo aeróbico, lo que puede exagerar aún más el daño producido por la isquemia, la respuesta del miocardio frente al proceso de isquemia-reperusión puede ser manipulada para retrasar y/o disminuir el daño. En relación al lote con DMSO; se conoce que éste es un agente químico que posee múltiples utilidades y beneficios terapéuticos, ya que puede usarse como antiinflamatorio, antiplaquetario, en dolores musculares, en infartos al miocardio y su principal acción analgésico⁷³, el interés de esta sustancia en este estudio, es que se utilizó como vehículo de la epicatequina y se quiso corroborar que no ejercía un efecto que potencializara a la sustancia estudiada, lo cual se comprobó, ya que se obtuvo un incremento de la zona infartada hasta un 61% en lugar de disminuir la zona infartada

En relación a la administración de epicatequina, se encontró que la disminución del tejido dañado en el corazón es concentración dependiente, ya que el % de zona de tejido sano aumentaba, obteniéndose desde 2.02 hasta 50.13, estos resultados son muy semejantes a los encontrados por otros investigadores como Yamazaki et al. en 2008, 2010; Ramírez Sánchez et al. en 2010, los que reportaron, que la administración del flavanol (-) epicatequina por 10 días consecutivos, ocasionó la reducción del tamaño del infarto en un 52% (48 horas) y en un 33% (a largo plazo: 3 semanas) y 3 semanas de oclusión coronaria permanente respectivamente^{74, 75}, con la diferencia, de que el tratamiento de ellos fue con oclusión permanente y en este estudio la administración del tratamiento fue 10 minutos antes de la oclusión.

Lo mismo ocurrió con el estudio realizado por Katrina et al. en 2014, en donde la administración de epicatequina fue en una dosis de 10mg/Kg (Inyectada 15 min antes de la reperfusión o 12 h después de la reperfusión), mostrando ser cardioprotectora en ratas, reduciendo el tamaño del infarto en un 27% después de 48 h y en un 28% después de 3 semanas de reperfusión, utilizando una única dosis de (-)-epicatequina.

Incluso se observaron efectos más sustanciales con la aplicación de una segunda dosis de epicatequina donde el infarto disminuyó cerca del 80% a las 48 h y en un 28% a las tres semanas de reperfusión^{75, 76}. También observaron evidencia de protección cuando las ratas fueron tratadas diariamente con 20 mg / kg de (-) – epicatequina durante 21 días después de la inducción del infarto al miocardio⁷⁶.

El conjunto de las investigaciones mencionadas, pone de manifiesto que la epicatequina es capaz de desempeñar un papel importante como agente cardioprotector frente al estrés oxidativo provocado por el proceso de isquemia-reperfusión, sin embargo el como lo hace se desconoce, aunque se tienen varias teorías como las siguientes:

- a. Se atribuye a las características farmacológicas de la epicatequina, ya que es un flavonol que presenta una biodisponibilidad más elevada que la mayoría de los compuestos polifenólicos, lo cual permite que su absorción sea rápida a nivel intestinal y con ello se favorezcan los diferentes procesos farmacocinéticos como son el metabolismo (hígado) y finalmente su excreción. Los flavonoides al ser absorbidos se fijan a proteínas plasmáticas como la albúmina y consiguen una distribución homogénea en todos los tejidos, incluso algunos logran atravesar la barrera hematoencefálica, logrando con ello llegar a su sitio de acción⁷⁷.
- b. También se dice que la epicatequina ejerce su efecto benéfico en la isquemia del corazón por la actividad antioxidante de los flavonoides, de los cuales ella forma parte; diversos estudios realizados con esta sustancia mencionan que este flavonoide puede evitar o retrasar el daño ocasionado por los altos niveles de ERO durante el estrés oxidativo, esto se debe a las propiedades redox de los grupos hidroxí - fenólicos y de las características estereoquímicas que presenta su estructura molecular.

En donde la mayor actividad antioxidante se debe a la sustitución 3' 4' orto dihidroxi en el anillo B (catecol), las disposiciones en posición meta en los carbonos 5 y 7, en combinación con los grupos hidroxilo sustituyentes del anillo A⁷⁸, mientras que los grupos *orto*-dihidroxi son los más importantes para que la actividad antioxidante sea más potente⁷⁹.

- c. Se cree que el posible mecanismo de acción que presentan los flavonoides (y con ello la epicatequina) para neutralizar el proceso oxidativo en los seres vivos, consiste en remover directamente a los radicales libres y a las especies reactivas del oxígeno como el O_2^- , el H_2O_2 o el HClO; y lo realizan por medio del grupo fenólico que poseen estos compuestos, ya que actúa directamente capturando electrones desapareados de los radicales libres y especies reactivas del oxígeno, generando así especies menos reactivas como el radical flavínico⁵² (Figura 25).

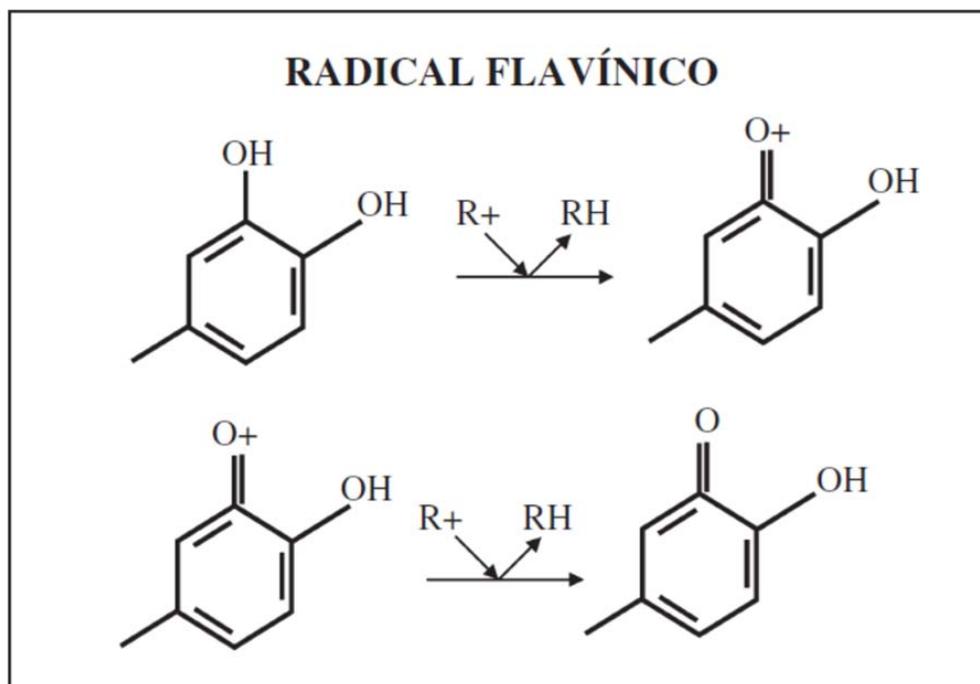


Figura 25. Formación del radical flavínico por la captura de los radicales por los polifenoles⁷⁹.

O bien por quelar iones metálicos de transición como el Fe (II), el Zn (II) y el Cu (I), evitando así la producción de las ERO por la reacción de Fenton⁵² (Figura 26).

REACCIÓN DE FENTON

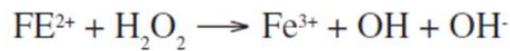


Figura 26. Reacción de Fenton ⁷⁹.

Aunque existe un consenso de que la actividad antioxidante de los flavonoides resulta de una combinación de sus propiedades quelantes y secuestradoras de radicales libres (RL).

Otros autores se refieren además a la inhibición de oxidasas, como la lipooxigenasa (LO), la ciclooxigenasa (COX I y COX II), la MPO, la NADPH oxidasa y la xantina oxidasa (XO); evitando la generación de especies reactivas del oxígeno *in vivo*, así como de hidroperóxidos orgánicos⁸⁰.

d. Agregado a todo lo anterior, diversas investigaciones han documentado que los flavanoles como la epicatequina, pueden ejercer efectos vasodilatadores, efectos antiplaquetarios, efectos antiinflamatorios, efectos antiapoptóticos, pueden disminuir la presión arterial, mejoran la función endotelial, aumentan las lipoproteínas de alta densidad, reducen el área postinfarto y disminuyen el daño ocasionado por la isquemia-reperfusión^{69, 77}.

Sin embargo, dado a la escasez de estudios sobre los efectos biológicos directos de este compuesto puro, es necesario realizar más investigaciones que permitan identificar el o los mecanismos de acción involucrados durante la cardioprotección con epicatequina en el infarto agudo al miocardio. Diversos estudios realizados en poblaciones indígenas, indican que el cacao y el chocolate son alimentos que al contener flavonoides entre sus metabolitos, poseen los efectos terapéuticos atribuidos a la epicatequina⁶⁹, sin embargo otros estudios mencionan que se desconoce hasta donde pueda efectuarse este efecto, ya que se desconoce la cantidad de dichos metabolitos en ellos y por lo tanto en lugar de ser benéficos puedan producir reacciones negativas, de ahí que surja la pregunta que se hacen muchos ¿hasta dónde los alimentos pueden ser agentes farmacológicos y llevarse como blancos terapéuticos?

9. Conclusiones

En el presente trabajo se estudiaron las propiedades cardioprotectoras del monómero (-)-Epicatequina (flavanol del Theobroma Cacao), encontrándose lo siguiente:

- Los modelos experimentales utilizados en esta investigación permitieron reproducir el infarto al miocardio, sin embargo no representan todos los aspectos de los ajustes clínicos.
- La administración gradual del flavanol 3,4-Dimetilepicatequina antes de la reperfusión en un corazón isquémico, mostró un efecto terapéutico al disminuir el tamaño del infarto en el miocardio.
- El efecto cardio-protector de la epicatequina durante el infarto agudo al miocardio fue dependiente de la concentración.
- La administración de la epicatequina presenta una capacidad para conferir cardio-protección durante el infarto agudo al miocardio.
- Hay que considerar más a la epicatequina como un agente cardioprotector con un potencial terapéutico contra las enfermedades cardio-vasculares, que como un suplemento dietético.

10. Referencias

- 1.- Institute, T. H. (10 de 2015). Anatomía del corazón. Recuperado el 01 de 01 de 2016, de Texas Heart Institute: http://www.texasheart.org/HIC/Anatomy_Esp/anato_sp.cfm
- 2.- Institute, T. H. (10 de 2015). El Latido Cardíaco. Recuperado el 03 de 01 de 2016, de Texas Heart Institute: http://www.texasheart.org/HIC/Anatomy_Esp/systole_sp.cfm
- 3.- Institute, T. H. (10 de 2015). El Sistema de Conducción. Recuperado el 04 de 01 de 2016, de Texas Heart Institute: http://www.texasheart.org/HIC/Anatomy_Esp/cond_sp.cfm
- 4.- Institute, T. H. (10 de 2015). La Sangre. Recuperado el 05 de 1 de 2016, de Texas Heart Institute: http://www.texasheart.org/HIC/Anatomy_Esp/blood_sp.cfm
- 5.- Institute, T. H. (10 de 2015). Las Arterias Coronarias. Recuperado el 06 de 1 de 2016, de Texas Heart Institute: http://www.texasheart.org/HIC/Anatomy_Esp/coroea_sp.cfm
- 6.- Nación, P. d. (s.f.). Enfermedad Cardiovascular. Recuperado el 07 de 01 de 2016, de Ministerio de Salud: <http://www.msal.gov.ar/ent/index.php/informacion-para-ciudadanos/enfermedad-cardiovascular>
- 7.- O.M.S. (01 de 2015). Datos y Cifras. Recuperado el 08 de 01 de 2016, de Centro de Prensa: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/es/>
- 8.- Benito Peinado, P. J., Calvo Bruscos, S. C., Gómez Candela, C., & Iglesias Rosado, C. (2014). Grasas y Enfermedad Cardiovascular. En Alimentación y Nutrición En La Vida Activa: Ejercicio Físico y Deporte (pág. 819). UNED.
- 9.- Goldman, L. (2007). Cardiopatía. En A. D. Goldman L, Aproximación al paciente con posible enfermedad cardiovascular (cap. 48). Philadelphia, Pasadena: Saunders Elsevier.
- 10.- Lopategui Corsino, E. (2011). Evolución de la Cardiopatía Coronaria. Recuperado el 27 de 04 de 2016, de Saludmed.com: http://www.saludmed.com/PEjercicio/contenido/Efectos_Ejer_Agudos-Cronicos_Enferm.html
- 11.- Institute, T. H. (10 de 2015). Cardiomiopatía. Recuperado el 14 de 03 de 2016, de Texas Heart Institute: http://www.texasheart.org/HIC/Topics_Esp/Cond/myopa_sp.cfm

-
- 12.- Ríos Briones, N. I., & Saldívar Rodríguez, D. (2011). *Imagenología*. D.F.: El Manual Moderno.
 - 13.- Contreras, P. (s.f.). Tipos de Enfermedades-Según su etiopatogenia. Recuperado el 14 de 04 de 2016, de Bipolaridad Transversal Magnética: <http://saludbtm.blogspot.mx/>
 - 14.-Candebet Moren, F. (s.f.). Infarto Agudo al Miocardio. Recuperado el 15 de 04 de 2016, de Monografías.com: <http://www.monografias.com/trabajos13/jorjon/jorjon.shtml#BIBLIO>
 - 15.-SaludMed. (2002). Bienestar. Recuperado el 16 de 04 de 2016, de SaludMed: <http://www.saludmed.com/Bienestar/Cap2/CHD-Exer.html>
 16. - Furie, B., & Furie, B. (2008). Mechanisms of Thrombus Formation 359(9). The New England Journal of Medicine, 948-949.
 17. - L. Kasper, D., Braunwald, E., Hauser, S., Longo, D., Jameson, J., & Fauci, A. (2005). Harrison's Principles of Internal Medicine (16th Edition). New York, NY: McGraw-Hill.
 18. - Hellman, A., & Bunch, B. (1988). The Timetables of Science. Nueva York: Simón and Schuster. p. 317.
 - 19.- Blanes Mompó, J., Lozano Vilardell, P., Flores Mpez, D., M-Rimbau Muñoz, E., Corominas Roura, C., & Juliá Montoya, J. (2005). Embolismo paradójico. *Angiología*, 163-166.
 - 20.- MedlinePlus. (05 de 2006). Arteriosclerosis. Recuperado el 21 de 04 de 2016, de MedlinePlus: <https://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/000170.htm>
 21. - V, K., Abul, A. K., Fausto, N., & Aster, J. (2009). Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease. En Saunders (Elsevier).
 22. - Alain, T., & Ziad, M. (2005). Cytokines in Atherosclerosis: Pathogenic and Regulatory Pathways. *Physiological Reviews*, 515-581.
 23. - Calligaro, K., K. Craig, K., L. Moneta, G., H. Pearce, W., & John , R. J. (2008). *Vascular Surgery*. Wiley.
 24. - Stary, H. (2003). Atlas of atherosclerosis: progression and regression. Parthenon Pub.
 - 25.- Valdés Rico, G. E. (2004). Vía clínica del Infarto Agudo de Miocardio con fibrinólisis. Nure Investigación.

-
- 26.- Martínez, S. (02 de 08 de 2013). Cardiopatía Isquémica. Recuperado el 29 de 04 de 2016, de smpatologia.blogspot: <http://smpatologia.blogspot.mx/2013/08/cardiopatia-isquemica.html>
- 27.- Institute, T. H. (10 de 2015). Ataque Cardíaco. Recuperado el 30 de 04 de 2016, de Texas Heart Institute: http://www.texasheart.org/HIC/Topics_Esp/Cond/attaspan.cfm
- 28.- ONSalus. (s.f.). Definición de Oclusión Coronaria. Recuperado el 01 de 05 de 2016, de ONSalus: <http://www.onsalus.com/definicion-oclusion-coronaria-21308.html>
- 29.- Férez Santander, S. M., F Márquez, M., Peña Duque, M. A., Ocaranza Sánchez, R., de la Peña Almaguer, E., & Eid Lidt, G. (2004). Daño Miocárdico por Reperusión. Revista Española de Cardiología, 9-21.
- 30.- Braunwald, E., & Kloner, R. A. (1895). Myocardial Reperfusion: A Double-edged Sword? Journal of Clinical Investigation, 1713-1719.
- 31.- Gurfinkel, E. (2008). La ardua comprensión de la definición de infarto del miocardio. Federación Argentina de Cardiología, 21-26.
- 32.- Pérez David, E., Arenal Maíz, Á., Fernández Portales, F., Crisóstomo, V., Ávila Alonso, P., Ledesma Carbayo, M. J., y otros. (2014). Evolución temporal de las características de la escala isquémica en un modelo experimental de infarto agudo de miocardio: estudio basado en resonancia magnética. Revista Española de Cardiología, 67 Supl 1:68.
- 33.- Cardiovascular, A. d. (s.f.). Fisiopatología de la Enfermedad Coronaria. Recuperado el 2 de 05 de 2016, de Escuela Medica Publicaciones: http://escuela.med.puc.cl/paginas/cursos/tercero/IntegradoTercero/mec-231_Clases/mec-231_Cardiol/Cardio3_17.html
- 34.- A., M. I. (02 de 03 de 2011). Enfermedad de la Arteria Coronaria. Recuperado el 04 de 05 de 2016, de Medtronic:
- 35.- Cardiovascular, A. d. (s.f.). Cardiopatía Coronaria. Recuperado el 05 de 05 de 2016, de Escuela Medica Publicaciones: <http://escuela.med.puc.cl/paginas/cursos/cuarto/integrado4/cardio4/Cardio41.html>

-
- 36.- Institute, T. H. (10 de 2015). Categorías de Arritmias. Recuperado el 06 de 04 de 2016, de Texas Heart Institute: http://www.texasheart.org/HIC/Topics_Esp/Cond/arcat_sp.cfm
- 37.- Casanova Rojas, E. (2005). Infarto Agudo al Miocardio: Situación en Región de Maule. Recuperado el 05 de 05 de 2016, de Programa de Investigación Factores de Riesgo de Enfermedades Cardiovasculares: http://pifrecv.otalca.cl/docs/int_publico/infarto_miocardio.pdf
- 38.- Bamonde-Tejeda, J. (2002). Adaptación Miocárdica a la Isquemia o Infarto. Rev. Per. Soc. Med. Intern., Vol. 15 • N° 4.
- 39.- Institute, T. H. (10 de 2015). Isquemia Silenciosa. Recuperado el 09 de 05 de 2016.
- 40.- Moreu-Burgosa, J., & Macaya-Miguel, C. (2007). Fisiopatología del miocardio isquémico. Importancia de la frecuencia cardiaca. Revista Española de Cardiología, 7(D):19-25.
- 41.- Sierra Vargas, M. P., Guzmán Grenfell, A. M., Olivares Corichi, I. M., Torres Ramos, Y. D., & Hicks Gómez, J. J. (2004). PARTICIPACIÓN DE LAS ESPECIES REACTIVAS DEL OXÍGENO EN LAS ENFERMEDADES PULMONARES. Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, México. vol.17 no.2.
- 42.- Ruiz-Meana, M., & García-Dorado, D. (2009). Fisiopatología del daño miocárdico por isquemia-reperfusión: nuevas oportunidades terapéuticas en el infarto agudo de miocardio. Revista Española de Cardiología, 62:199-209.
- 43.- Luna, P., Molina Méndez, J., Lesprón, M. d., González Chón, O., Romero Borja, J., Beltrán Lupi, U., y otros. (1994). Bloqueadores del Calcio y Anestesia. Revista Mexicana de Anestesia, 17;196-205.
- 44.- Herradón, B. (2011). Calpaína y sus Inhibidores. Madrid-España: SEBBM DIVULGACIÓN. Ibacache Figueroa, M. (2011). Cardioprotección Por Dexmedetomidina. Santiago de Chile.
- 45.- A. Pérez, L. (2009). Infarto al Miocardio. Recuperado el 11 de 05 de 2016, de Cardimed: <http://www.cardimed.cl>
46. - Murphy, E., & Steenberger, C. (2008). Mechanisms Underlying Acute Protection From Cardiac Ischemia-Reperfusion Injury. Physiological Reviews, 88:581-609.

-
- 47.- Barcelona, U. d. (22 de 02 de 2016). Estrés oxidativo en las enfermedades metabólicas hereditarias (ECM). Recuperado el 08 de 05 de 2016, de Guía Metabólica: Hospital Materno Infantil Sant Joan De Déu: <http://www.guiametabolica.org/noticia/estres-oxidativo-enfermedades-metabolicas-hereditarias-ecm>
- 48.- García Medina, J. J., & García Medina, M. (2007). Estrés Oxidativo: Mecanismos Moleculares al Alcance del Oftalmólogo. Thea INNOVACIÓN.
- 49.- Antioxidantes, P. (s.f). ¿Qué Consecuencia Supone Para El Organismo El Estrés Oxidativo? Recuperado el 08 de 05 de 2016, de <http://www.portalantioxidantes.com/antioxidantes/>
- 50.- Salud180. (s.f). Antioxidantes. Recuperado el 12 de 06 de 2016, de Salud180: <http://www.salud180.com/salud-z/antioxidantes>
- 51.- Wikipedia. (04 de 2016). Antioxidante. Recuperado el 12 de 05 de 2016, de Enciclopedia Libre: <https://es.wikipedia.org/wiki/Antioxidante>
- 52.- Quiñones, M., Miguel, M., & Aleixandre, A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*, vol.27:76-89.
- 53.- Zarate Bello, S. (2012). Tesis "Cuantificación de compuestos fenólicos totales y taninos condensados de látex y corteza de *Croton draco* var. *draco*, Schltdl. & Cham., provenientes de un bosque tropical". Veracruz-Jalapa.
- 54.- Mercado-Mercado, G., de la Rosa Carrillo, L., Wall-Medrano, A., López Díaz, J., & Álvarez-Parrilla, E. (2013). Compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante de especias típicas. *Nutrición Hospitalaria*, 8(1):36-46.
- 55.- Martínez M., A. (2005). Flavonoides. Medellín.
- 56.- UPV/EHU. (s.f). Glucósidos Flavonoides. Recuperado el 13 de 05 de 2016, de Universidad del País Vasco Euskal Herriko Unibertsitatea: <http://www.ehu.eus/biomoleculas/hc/sugar33c4.htm>
- 57.- Pandey, K. B., & Rizvi, S. I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(5), 270–278.
58. - Tsao, R. (2010). Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *Nutrients*, 2(12), 1231–1246. <http://doi.org/10.3390/nu2121231>
-

-
- 59.- López Luengo, T. (2002). Flavonoides. *Ámbito Farmacéutico*, Vol. 21 Núm. 2:108-113.
- 60.- Botanical-online. (1999). Propiedades de los Flavonoides. Recuperado el 14 de 05 de 2016, de <http://www.botanical-online.com/medicinalesflavonoides.htm>
- 61.- Salud, L. y. (24 de 09 de 2012). Flavonoides. Recuperado el 14 de 05 de 2016, de <http://www.lineaysalud.com/nutricion/los-flavonoides>
- 62.- SIAP. (s.f.). La Historia del Cacao en México. Recuperado el 15 de 05 de 2016, de siaprendes: <http://www.siap.gob.mx/siaprendes/contenidos/3/02-cacao/imagenes-cacao/historieta-v4.swf>
- 63.- Attolini Lecón, A. (1 de 04 de 2011). Cuentas, dares y tomares del cacao: delicia, convite, rito mesoamericano. Aspectos antropológicos. Recuperado el xx de 05 de 2016, de <http://www.revista.unam.mx/vol.12/num4/art38/>
- 64.- Aguirre Botello, M. (12 de 2005). El Cacao. Recuperado el 15 de 05 de 2016, de Méxicomaxico: <http://mexicomaxico.org/dadivas/cacao.htm>
- 65.- Granado Serrano, A. B. (2010). Estudios de los Mecanismos de Acción Molecular de Polifenoles de la Dieta en Cultivos Celulares y Animales de Experimentación. Madrid-España.
- 66.- Ciarlotti, F. (2012). Los Flavonoides. En *Ayurveda y rejuvenecimiento*. LEA.
- 67.- Parra Blanco, G. J. (2012). Farmacología de la (-)-epicatequina. Orizaba-Veracruz.
- 68.- Hernández Martínez, M. (2011). Modulación de la metilación de genes en células de cáncer de mama por (-)-Epicatequina y (+)-Catequina de *Theobroma Cacao*". México D.F.
- 69.- Muñoz Jáuregui, A. M., & Ramos Escudero, F. (2007). Componentes fenólicos de la dieta y sus propiedades biomedicinales. *Revista Horizonte Médico*, 23-31.
- 70.- Chile, U. d. (s.f.). Biodisponibilidad. Recuperado el 16 de 05 de 2016, de http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias_quimicas_y_farmaceuticas/cide02/capitulo06/01.html
- 71.- Nutresa, G. E. (s.f.). Antioxidantes, chocolate y salud. Vidarium, http://www.vidarium.org/sites/default/files/archivoseditordetexto/antioxidantes_chocolate_y_salud.pdf

72.- Muñoz Fernández, F. (11 de 07 de 2002). DMSO Dimetil Sulfóxido. Recuperado el 2016 de 8 de 8, de www.dmsso.es

73.- Go Yamazaki, K., Taub, P. R., Barraza-Hidalgo, M., Rivas, M. M., Zambon, A. C., Ceballos, G., y otros. (2010). Effects of (-)-Epicatechin on Myocardial Infarct Size and Left Ventricular Remodeling After Permanent Coronary Occlusion. *Journal of the American College of Cardiology*, Vol. 55, No. 25:2869–76.

74. - Go Yamazaki, K., Andreyev, A. Y., Ortiz-Vilchis, P., Petrosya, S., Divakaruni, A. S., Wiley, S. E., y otros. (2014). Intravenous (-)-epicatechin reduces myocardial ischemic injury by protecting mitochondrial function. *International journal of cardiology*, 175(2): 297–306. .

75.- Shay, J., Elbaz, H. A., Lee, I., Zielske, S. P., Malek, M. H., & Hüttemann, M. (2015). Molecular Mechanisms and Therapeutic Effects of (-)-Epicatechin and Other Polyphenols in Cancer, Inflammation, Diabetes, and Neurodegeneration. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 181260.

76. - Council, E. F. (02 de 07 de 2006). Las propiedades beneficiosas de los flavonoides del cacao. Recuperado el 17 de 05 de 2016, de <http://www.eufic.org/article/es/artid/propiedades-beneficiosas-flavonoides-cacao/>

77.- Cartaya, O., & Reynaldo, I. (2001). FLAVONOIDES: CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS Y APLICACIONES. *Cultivos Tropicales*, vol. 22, no. 2, p. 5-14.

78.- Martínez-Flórez, S., González-Gallego, J., Culebras, J. M., & Tuñón, J. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición Hospitalaria*, 17:271-278).

79.- Pérez Trueba, G. (2003; 22(1).). Los flavonoides: antioxidantes o prooxidantes. *Revista Cubana Investigación Biomédica*, 48-57.

80.- Go Yamazaki, K., Romero-Pérez, D., Barraza-Hidalgo, M., Cruz, M., Rivas, M., Cortez-Gómez, B., y otros. (2008). Short- and long-term effects of (-)-epicatechin on myocardial ischemia-reperfusion injury. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, 295(2): H761–H767.